

**Untersuchungen über die freien Aminosäuren der
menschlichen Hornschicht im Verlaufe einer
Hydrotherapie**

Gerda Bader

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551923_0006

AUS DEM INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE
BALNEOLOGIE UND KLIMATOLOGIE
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Vorstand: Prof. Dr.med. H. Drexel

Untersuchungen über die freien Aminosäuren der
menschlichen Hornschicht im Verlaufe einer
Hydrotherapie



Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Gerda Bader
aus
Türkheim

1975

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Drexel

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 15.7.1975



MEINEN LIEBEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

<u>I. Einleitung und Problemstellung</u>	S. 1
<u>II. Die Haut</u>	3
1. Die Struktur der Haut	3
a) allgemeine Anatomie	3
b) Histologie: Epidermis	4
Corium	
Subcutis	
2. Der Verhornungsprozess	6
3. Die stoffliche Zusammensetzung der Hornhaut	7
a) Bestandteile des Stratum corneum	7
b) Zusammensetzung des WL	7
c) Funktion des WL	8
d) Herkunft des WL	8
4. Der Energiestoffwechsel der Haut	8
a) Energiestoffwechsel	8
b) Eiweißstoffwechsel: Aufbau der Proteine	9
Abbau der Proteine	
5. Die Funktion der Haut	9
<u>III. Methode</u>	11
A) Materialgewinnung	11
1. Auswahl der Versuchspersonen	11
a) äußere Voraussetzungen	11
b) besondere Auswahlkriterien	11
c) Therapie	12
2. Kontrollgruppe	15
3. Fragebogen	15
4. Hautabrisse: Zeitpunkt	19
Lokalisation	
Technik	
Zahl der Abrisse	
Aufbewahrung	

B) Materialverarbeitung	S. 22
1. Aufbereitung der Proben	22
2. Chromatographie	23
a) Prinzip	23
b) Aufbau des AS-Analysators: Probengeber	25
Säulen	
Reagenzeinheit	
Pumpeneinheit	
Heizbad	
Temperierbad	
Photometer u. Schreiber	
Schema	
Datenerfassungsanlage	
3. Ordnen der gewonnenen Daten	31
C) Auswertung der Chromatogramme	32
1. Beschreibung des Fortran Programms "CHROMA"	32
2. Tabelle der ausgedruckten Daten	34
3. Extinktions- und Transmissionskurve eines HS-Fluates	34

<u>IV. Ergebnisse</u>	37
1. Identifizierung der AS	37
2. Schichtdickenbestimmung der Haut	39
3. Vergleichende Untersuchungen der relativen AS-Konzentrationen	39
A) Methode	39
a) Berechnung von Vergleichswerten:	39
Begründung	
- Allgemeine Korrektur auf gleiche Empfindlichkeit	40
- Berechnung der Fläche/nMOL	
- Individuelle Korrektur auf gleiche Empfindlichkeit	
- Relativwerte	
b) Statistische Verfahren	41

B) Ergebnisse	42
1. Veränderungen der AS-Werte nach einer Woche Kuraufenthalt (VP und KP)	43
2. Veränderungen der AS-Werte nach vier Wochen Kuraufenthalt (VP und KP)	43
3. Vergleich der AS-Werte vor Therapiebeginn mit den Werten nach Beendigung der Kur	44
a) VP und KP	
b) Versuchsgruppe mit hydrotherapeutischer Behandlung nach KNEIPP	
c) Kontrollgruppe	
d) Tabellen	45
4. Korrelationsmatrix	52
5. Faktorenanalyse	53
a) allgemein	53
b) Verlauf	54
c) Ergebnisse	54
d) Beschreibung der Ergebnisse	60
<u>V. Diskussion</u>	61
1. Diskussion der Methode	63
a) die Abrißtechnik	63
b) zur Frage: Wann ist die Barriere erreicht?	63
2. Die freien AS im Stratum disjunctum: Vorkommen und Bestimmbarkeit	66
3. Diskussion der Differenzen der AS-Mittelwerte beim Vergleich der Probenentnahmen zu verschiedenen Zeitpunkten	67
a) Überlegungen zum Einfluß der Hydrotherapie nach KNEIPP auf die AS der menschlichen Epidermis:	67
Veränderungen des "turn-over"	
Steigerung der Schweißsekretion	
Regeneration des WL	
Der Harnstoffzyklus	

b) Veränderungen der AS-Werte nach einwöchigem Milieuwechsel	S. 76
c) Die Auswirkungen eines 4-wöchigen Kuraufenthaltes auf das AS-Muster der Epidermis unabhängig von einer bestimmten Therapieform	78
4. Diskussion der Ergebnisse der Korrelationsmatrix und der Faktorenanalyse	78
a) Zusammenhänge zwischen einzelnen AS	78
b) Zusammenhänge zwischen AS und Angaben des Fragebogens	79
1. Abhängigkeit der AS vom Alter	79
2. Badegewohnheiten und die Auswirkungen von Reinigungsbädern	80
3. Bestehen Zusammenhänge zwischen einzelnen therapeutischen Maßnahmen und dem Verhalten einer oder mehrerer AS?	81
<u>VI. Zusammenfassung</u>	83
<u>VII. Literaturverzeichnis</u>	86

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

α -ABS	α -Aminobuttersäure
AIL	Allo-Isoleucin
ALA	Alanin
AMM	Ammoniak
ARG	Arginin
AS	Aminosäure(n)
ASN	Asparagin
ASP	Asparaginsäure
CIT	Citrullin
CYS	Cystein
CYSS	Cysteinsäure
GLY	Glycin
GLN	Glutamin
GLU	Glutaminsäure
HAR	Harnstoff
HIS	Histidin
HYP	Hydroxyprolin
ILE	Isoleucin
LEU	Leucin
LYS	Lysin
MHIS	Methylhistidin
MET	Methionin
NOR	Norleucin
ORN	Ornithin
PHE	Phenylalanin

PRO	Prolin
SER	Serin
TAU	Taurin
THR	Threonin
TRP	Tryptophan
TYR	Tyrosin
VAL	Valin
T	Testgemisch
VP	Versuchsperson
KP	Kontrollperson
MW	Mittelwert
HS	Hornschicht
WL	Wasserlösliches
UWM	Unterwassermassage
WeR	Wechselguß am Rücken
RB1	Blitzguß am Rücken
Vb	Vollbad
GW	Ganzwaschung
Gym	Gymnastik
BÜ	Bewegungsübungen
TM	Teilmassage
ASQ	Aminosäuren-Quotient

I. Einleitung und Problemstellung

Die Haut stellt eine Übergangszone des menschlichen Organismus zu seiner Umwelt dar. Sie ist daher, wie kaum ein anderes Organ, exogenen Einflüssen wie Änderungen der Temperatur, der Luftfeuchtigkeit, Wasser, mechanischen Reizen und Strahlung, ausgesetzt (28). Es ist die Aufgabe der Haut, durch ihr eigene Funktionen (z.B. Änderung der Hautdurchblutung bei Temperaturänderungen) den Körper vor diesen Reizen zu schützen. Treten diese Reize mit einer Intensität und Dauer auf, wie es unter normalen Umweltbedingungen üblich ist, ist die Haut in der Lage ihre Schutzfunktion wahrzunehmen, ohne selbst geschädigt zu werden.

Aufgabe dieser Arbeit soll es nun sein, einen dieser Umweltfaktoren, nämlich das Wasser, herauszugreifen und seinen Einfluß auf die Haut bei intensiver und einer über einen längeren Zeitraum reichenden Applikation zu untersuchen. Es interessiert hier insbesondere die Frage, ob die Haut das unnatürliche Überangebot an Wasser toleriert, ob sich biochemische Veränderungen nachweisen lassen, oder ob das Organ dadurch geschädigt wird.

Diese natürlichen Reize, wie sie in der Umwelt vorkommen, werden auch in der Balneologie und Klimatologie angewendet, nur werden sie hier gezielt und in größeren Mengen verabfolgt. Es bot sich daher die Hydrotherapie als geeignetes Untersuchungsobjekt für unsere Fragestellung an.

Untersucht werden sollen die Veränderungen der relativen Konzentrationen der freien AS in der Hornschicht, da die AS mit Hilfe der Chromatographie leicht bestimmbar sind und mit wesentlichen Stoffwechselfunktionen der Epidermis verknüpft sind. Auf die besondere Bedeutung der AS in der Haut hat PRATZEL (27) bereits in Untersuchungen über "Die biochemischen Vorgänge in der menschlichen Hautoberfläche" hingewiesen.

Der Einfluß des Wassers auf die Haut stand schon häufig im Mittelpunkt meistens dermatologischer Untersuchungen über die Badedermatitis. Aus balneologischer Sicht interessierte vor allem die Aufnahme von Stoffen aus dem Wasser oder die Abgabe von Substanzen aus der Haut an das Wasser (7). Mit der Eluierbarkeit von Hornschichtbestandteilen beschäftigten sich vor allem auch PRATZEL und BIRNKAMMER (27,3). Sie prüften die Eluierbarkeit der AS und des Harnstoffs in kleinen, mit Wasser gefüllten Meßkammern, die auf dem Unterarm befestigt wurden. Aus arbeitsmedizinischer Sicht interessierte vor allem die Wirkung von in Wasser gelösten Stoffen. So prüften STÖPL und SZAKALL (50) die Wirkung von Waschmitteln auf die Haut und PFLEGER (24) untersuchte die Auswirkungen der Applikation verschiedener Detergentien.

Diese Arbeit soll insofern eine Lücke schließen, als daß sie eine Langzeitbeobachtung darstellt, und die Wasserbenetzung der Haut sich auf den gesamten Körper und nicht nur auf ein kleines Hautareal beschränkt.

Daß bei einer Versuchsdauer von vier Wochen die Einflüsse von Störfaktoren sehr groß sein können ist verständlich. Um trotzdem aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, wird eine Kontrollgruppe gebildet.

Im Einzelnen sollen in dieser Arbeit folgende Fragen beantwortet werden:

- 1) Welche AS kommen in der menschlichen HS vor?
- 2) Welche Veränderungen des AS-Musters ergeben sich durch eine Hydrotherapie?
- 3) Gibt es noch andere exogene und auch endogene Faktoren, die das AS-Muster der HS beeinflussen?

Zum besseren Verständnis der Zusammenhänge möchte ich nun, bevor ich zum eigentlichen Thema dieser Arbeit komme, einen - wenn auch nicht vollständigen - Überblick über den Aufbau der Haut, ihre Funktion und ihren Stoffwechsel geben.

II. Die Haut

1. Die Struktur der Haut

a) allgemeine Anatomie

Die Haut überzieht als geschlossene Hülle die gesamte äußere Oberfläche des Körpers. Sie setzt sich zusammen aus der ektodermalen Epidermis (Oberhaut), dem mesodermalen Corium (Lederhaut) und der Subcutis (Unterhautfett- und Bindegewebe). Epidermis und Corium werden auch unter dem Begriff Cutis zusammengefaßt. Die gesamte Haut einschließlich der Subcutis hat ein Frischgewicht von etwa 18-20 kg, der Anteil der Epidermis beträgt rund 0,5 kg, der des Corium ca. 3,5 kg. (49)

Die Dicke der Epidermis ist abhängig von der Lokalisation und beträgt entsprechend der durchschnittlich 5-12 Zellagen etwa 0,1 mm. Die Hornschicht als Endprodukt der sich abstoßenden epidermalen Zellen ist von wechselnder Stärke, die lokalisationsbedingt ist und von der mechanischen Inanspruchnahme abhängt. So ist sie an der Fußsohle und an der Hohlhand am dicksten. STÜTTGEN (49) gibt für die Hornschichtdicke der Bauchhaut 6 - 32 μ und unter den Füßen bis zu 80 μ an.

Auch die Dicke des Coriums folgt individuellen und lokalisationsschwankungen. Beim Mann ist ein stärker entwickeltes Corium festzustellen.

Die Subcutis ist auf ihren Unterlagen wie Muskulatur und Aponeurosen gut verschieblich. Gruppen von Fettzellen sind vom Bindegewebe so umschlossen, daß traubenförmige Gebilde entstehen.

Innervation:

Die Haut wird von sensiblen Fasern des cerebrospinalen Nervensystems und von anatomisch dem Sympathicus zuzuordnenden Fasern des autonomen Nervensystems versorgt.

Blutversorgung:

Arterien und Venen bilden an der Grenze von Cutis und Subcutis ein tiefes subcutanes Gefäßnetz. Von ihm steigen Gefäße, die nach GERTLER (12) als Kandelaberarterien bezeichnet werden, senkrecht auf und bilden noch ein undeutliches mittleres Gefäßnetz im Corium. Die Epidermis besitzt kein Gefäßsystem, sie wird durch Diffusion vom Corium her versorgt.

Das Lymphsystem:

Es beginnt mit den Interzellularlücken in der Keimschicht des Epithels und bildet in Corium und Subcutis Lymphkapillaren und -gefäße. Die größeren Äste verlaufen zusammen mit den Venen.

b) Histologie

Die Epidermis

Die Epidermis läßt sich in eine oberflächliche Hornschicht, Stratum corneum, und eine tiefe Keimschicht, Stratum germinativum unterteilen.

Keimschicht:

Ihre unterste Zellage besteht aus Zylinderzellen (Stratum cylindricum), darauf folgen mehrere Lagen polyedrischer Zellen, die durch Protoplasmabrücken miteinander verbunden sind (Stachelzellschicht oder Stratum spinosum). Die folgende Körnerschicht (Stratum granulosum) zeigt im Protoplasma neben dem kleiner werdenden Kern zahlreiche Keratohyalinkörner. Sie liefert fettartige Substanzen, die die Hornschicht durchtränken und ihr das weiße Aussehen geben. Die helle, durchscheinende Schicht, Stratum lucidum, enthält Glykogen und fein verteiltes Eleidin. Die Keimschicht wird von den bogenförmig verlaufenden Tonofibrillen durchzogen. Sie sind auf Druck konstruiert und geben dem Epithel eine gewisse Festigkeit (49).

Hornschicht:

Das Stratum corneum besteht aus verhornten, abgeplatteten Zellen. Aufgrund von Abrißstudien, durchgeführt von SZAKALL, PINKUS et al. teilt man das Stratum corneum in einen peripheren Anteil, die Pars disjuncta und einen inneren Anteil, die Pars conjuncta ein. Dieser wird auch als Barriere bezeichnet, da es sich um eine lückenlos zusammenhängende, frisch verhornte Trennschicht handelt; eine Übergangsschicht von dem feuchten zum trockenen Teil der Epidermis, die für den Wasserdurchlaß maßgebend ist und einen Resorptionsriegel darstellt (2). Beim Übergang der Barriere in das Stratum disjunctum verlieren die "säulenartig angeordneten Hornzellen" (5) ihren strukturellen Zusammenhang, indem sie sich in immer kleiner werdende, aus Hornzellen bestehende Inselchen auflösen. Offenbar verlieren die Desmosomen und die Kittsubstanz ihre Wirkung. Nach BAUER (ref. SZAKALL) nehmen häufig Bakterien an der Entstehung dieser Gewebsart teil.

Das Corium

Es läßt sich in ein zarteres papillenträgendes Stratum papillare und ein derberes Stratum reticulare unterscheiden. Das Stratum papillare trägt an der Oberfläche zapfen- oder höckerartige Fortsätze und ist so durch eine große Oberfläche mit der Epidermis verbunden. Im Stratum reticulare befinden sich nur wenige Zellen. Hier sind vor allem kollagene und elastische Fasern, Blutgefäße, Nerven und glatte Muskelzellen zu finden.

Die Subcutis

Sie stellt die Verbindung zur Unterlage (Faszie, Muskeln, Knochen) her. Sie besteht aus einem System nahezu vollständig geschlossener, bindegewebiger Kammern, die mit Fettzellen gefüllt sind.

2. Der Verhornungsprozeß

Die Hornschicht unseres Körpers wird von der Epidermis, einem Mäusergewebe, durch laufende Regeneration während des ganzen Lebens gebildet. SCHWARZ (39) beschreibt den Vorgang folgendermaßen: "Aus der Regenerationszone der Basalzellschicht steigen Zellen zur Oberfläche auf und unterliegen dabei gewissen Differenzierungsvorgängen. Nach Formation sogenannter Keratohyalin granula erfolgt die Verhornung fast von einer Zelle zur andern. Dabei werden die Granula wieder aufgelöst, die histologische Anfärbbarkeit der Kerne erlischt, es findet sich eine einschneidende Dehydratisierung und der pH fällt von ca. 7 auf Werte von 4 - 5." Die Hornschicht stellt mit 10% Wassergehalt die wasserärmste Struktur des Körpers dar. Diese Wasserarmut läßt sich jedoch nicht auf einen Austrocknungseffekt zurückführen, da auch der Fetus im Fruchtwasser eine Verhornung zeigt. Es handelt sich vielmehr um einen vom Epithel selbst gesteuerten Vorgang (43). Nach einer Berechnung von PINKUS (26) kommen auf eine Hornzelle in der menschlichen Epidermis etwa 25 Basalzellen. Jede Basalzelle durchläuft innerhalb 24 Std. eine Mitose. Nach STÜTTGEN (49) darf man annehmen, daß pro Tag eine Zellschicht kernloser Epidermis abgestoßen wird, was bedeutet, daß sich in 30 Tagen die gesamte Hornschicht regenerieren muß. Nach ROTHE (32) beträgt die vollständige Regeneration, gemessen an der Hautwasserabgabe etwa 15 Tage, nach WEINERT (57), gemessen an der Hautkohlenstoffabgabe, mehr als 19 Tage. GOTTRON und SCHÖNFELD (14) stellten fest, daß die Mitosefrequenz durch örtliche mechanische und elektrische Reize beeinflusst werden kann.

3. Die stoffliche Zusammensetzung der Hornhaut

a) Die Bestandteile des Stratum corneum

Im Stratum corneum sind folgende Stoffgruppen anzutreffen: Skleroproteine (Struktureiweiße), wasserlösliche Stoffe, Lipide und Wasser. Folgende Tabelle nach SCHWARZ (39) gibt die Durchschnittswerte für die einzelnen Stoffgruppen an:

	Barriere	Oberflächenschabsei
Skleroproteine	50 %	50 %
Wasserlösliches	38 %	23 %
Lipide	2 %	20 %
Wasser	10 %	7 %

SCHWARZ führt den scheinbar unterschiedlichen Gehalt an wasserlöslicher Substanz auf die unterschiedliche Größe der Lipidfraktionen zurück, da die der Oberfläche durch Kontamination mit Talg erhöht ist. Bei Bezug auf (fettfreies) Trockengewicht gleicht sich die Differenz weitgehend aus. Es wird ein Wert von 42 % Wasserlöslichem in der Barriere angegeben.

b) Die Zusammensetzung des Wasserlöslichen

SPIER und PASCHER ist es gelungen, das WL zu ca. 90 % zu identifizieren. Es setzt sich nach MÜLLER (21) aus folgenden Bestandteilen zusammen:

40 % freie Aminosäuren	5 % Natrium
10 % Milchsäure	4 % Kalium
9 % Pyroglutaminsäure	4 % Chlorid
5 % Harnstoff	2 % Urocaninsäure

c) Die Funktion des Wasserlöslichen

Die Funktion der Barriere ist wesentlich von der Anwesenheit des Wasserlöslichen zwischen den Hornzellen abhängig. Ein nicht kompensierbarer Verlust des WL wird als Ursache verschiedener Hautschäden (trockene und rissige Haut) angesehen (27). Die AS bilden einen 0,8 molaren Puffer und sind für den schwach sauren pH der Hautoberfläche mitverantwortlich. Auch wird ihnen dadurch eine bakterizide Wirkung zugesprochen.

d) Die Herkunft des Wasserlöslichen

SPIER und PASCHER (44) sahen es noch als naheliegend an, das WL als den Verdunstungsrückstand des Schweißes zu betrachten. Doch experimentelle Befunde von GRÜNEBERG und SZAKALL (15) sprechen für die Tatsache der vorwiegend nucleogenen Entstehung dieser Substanzen vor allem aus den zerfallenden Zellkernen des Stratum granulosum. Als Gründe werden die überraschende Konstanz des WL mit 42 %, der konstante Stickstoffgehalt von 15 % und Kohlenstoffgehalt von 29,5 % unabhängig von schwachem oder starkem Schwitzen angegeben. Auch spricht gegen die sudorigene Entstehung der AS die Feststellung von ROBERTS und FRANKEL (30), daß die Epidermis von Mäusen, die keine Schweißdrüsen besitzen, reich an AS ist.

4. Der Stoffwechsel der Haut

a) Der Energiestoffwechsel

Die energetisch-oxydativen Vorgänge in der Haut weisen im Vergleich zu den übrigen Organen keine Besonderheiten auf. Die Haut bezieht ihren Energiebedarf zur Wärmeproduktion und Energiespeicherung aus der Atmung, der aeroben und anaeroben

Glykolyse. Nach BODE (4) läßt sich im Stratum spinosum, in der Körnerschicht und in der Wurzelscheide der Haare immer Glykogen nachweisen. FERREIRA-MARQUES (8) nennt das Stratum basale auch Stratum oxybioticum und stellt ihm für das Stratum granulosum, lucidum und corneum den gemeinsamen Begriff des Stratum anoxybioticum gegenüber. Dadurch ist die in jeder Schicht vorherrschende Art der Glykolyse gekennzeichnet.

b) Der Eiweißstoffwechsel

Aufbau der Proteine:

Die Synthese der Proteine erfolgt über aktivierte AS an den Ribosomen nach Muster des genetischen Code. Proteasen wirken im Verlaufe der Synthese als gruppenübertragende Enzyme indem sie Peptidbruchstücke anderen Peptiden übertragen. Die dazu notwendige Energie wird von der Adenosintriphosphorsäure geliefert.

Abbau der Proteine:

Die Proteolyse geschieht mit Hilfe proteolytischer Fermente, wobei man Endo- und Exopeptidasen unterscheiden kann (Spaltung der inneren Peptidbindung, bzw. Abspaltung endständiger AS). Die Endprodukte der Proteolyse sind die AS.

5. Die Funktion der Haut

In erster Linie kann die Haut als ein Schutzorgan bezeichnet werden. Die Hornschicht verhindert ein Eindringen von Bakterien und festen, flüssigen und gasförmigen Stoffen. Das Stratum corneum conjunctum beschränkt die Wasserabgabe (Verdunstung) und reguliert die Wasserresorption. Die elastische Lederhaut bietet einen Widerstand gegen mechanische Einflüsse wie Zug und Druck. Das saure pH der Hautoberfläche, das Vorhandensein

bakterizider Stoffe wie Fettsäuren, saurer AS und freier Milchsäure beeinträchtigen das Wachstum vieler Bakterien und Pilze (20).

Neben diesen nach außen gerichteten Schutzfunktionen (Ekto-phylaxie) hat die Haut noch wichtige nach innen gerichtete Schutzfunktionen (Eisophylaxie) (56):

Als Organ der Wärmeregulierung regelt sie die Durchblutung der Haut und die Absonderung des Schweißes. Sie verhindert durch Kontraktion und Dilatation ihrer Gefäße eine zu starke Wärmeabgabe bzw. -stauung. Unterstützt wird die Konstanterhaltung der Körperwärme noch durch die isolierende Wirkung des Unterhautfettgewebes.

Als vielseitiges Sinnesorgan nimmt die Haut mit spezifischen Nervenendapparaten Druck-, Temperatur- und Schmerzreize auf. Auch steht die Haut im Dienste der Antikörperbildung.

III. Methode

A) Materialgewinnung

1. Auswahl der Versuchspersonen

a) äußere Voraussetzungen

Wie aus früheren Arbeiten bekannt ist, besteht eine Beziehung zwischen Umwelteinflüssen (exogenen Faktoren) und dem AS-Gehalt der menschlichen Epidermis. So beschreiben SPIER und MARCHIONINI (45) einen niedrigeren AS-Gehalt des Stratum disjunctum im Winter gegenüber den Sommermonaten. MÜLLER (21) sieht auch einen Zusammenhang zwischen Ernährung und den AS in der Haut.

Um diese Störfaktoren nach Möglichkeit auszuschließen, beschränkte ich die Versuchsreihe auf die Monate März und April und wählte als Versuchspersonen Patienten einer Kurklinik (Kurklinik für Innere Krankheiten der LVA in Bad Wörishofen), da die Patienten dort im Gegensatz zu privat wohnenden Kurgästen alle gleich untergebracht sind, die gleiche oder zumindest ähnliche (Diät) Verpflegung erhalten und einem gleichen Tagesrhythmus unterliegen. Auch war eine korrekte und regelmäßige Durchführung der hydrotherapeutischen Anwendungen aus Beste gewährleistet.

b) besondere Auswahlkriterien

An den Versuchen nahmen 21 Patienten teil. Die eigentliche Versuchsgruppe (Hydrotherapie) bestand aus 5 Männern und 5 Frauen. Die restlichen 11 Personen gehörten der Kontrollgruppe (Bewegungstherapie) an.

Um Personen mit möglichst ähnlichem AS-Muster zu erhalten, mußten endogen beeinflussende Faktoren mitberücksichtigt werden.

Die Patienten wurden deshalb nach folgenden Kriterien ausgewählt:

- 1) Alter zwischen 45 - 55 Jahren
- 2) keine Neigung zu starkem diffusem Schwitzen
- 3) keine Hautkrankheiten und Allergien
- 4) normale Haut- und mittelbraune bis schwarze Haarfarbe

Denn schon SALFELD (34) weist auf einen extrem hohen AS-Gehalt der Altershaut hin und erklärt diesen mit einer stark abnehmenden Enzymaktivität im Alter. MÜTING (22) beschreibt eine enge Beziehung zur Pigmentbildung und weist besonders auf die aromatischen AS Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan als Melaninvorstufen hin. MÜLLER (21) gibt stark erhöhte Werte für einzelne AS bei Psoriasis und anderen Hautkrankheiten an. BAUER (2) verweist auf eine AS-Abnahme bei starkem Schwitzen durch Auslaugung der Haut.

c) Therapie

Bei unserem Krankengut handelte es sich um eine ziemlich repräsentative Auswahl aus den Wörishofener Kurpatienten. Sie umfaßte Erkrankungen aus fast allen Gebieten der Inneren Medizin, ausgenommen natürlich Infektionskrankheiten und akute Fälle, vorwiegend jedoch Herz- und Gefäßerkrankungen, sowohl regulatorischer als auch organischer Art, Hypo- und Hypertonien, Krankheiten der Leber und der Niere, rheumatische Erkrankungen und Adipositas. Nach den Anamnesen handelte es sich immer um längere, oft schon bis zu Jahrzehnten bestehende Leiden.

Bei allen Personen der Versuchsgruppe wurde eine Hydrotherapie nach KNEIPP durchgeführt. Sie wurde nach einwöchigem Aufenthalt in der Klinik begonnen und dauerte drei Wochen. Art und Zahl der Anwendungen waren bei den einzelnen Patienten ver-

schieden und auf das jeweilige Krankheitsbild abgestimmt. Das Spektrum erstreckte sich von den sogenannten kleinen hydrotherapeutischen Anwendungen wie Arm-, Knie-, Schenkelgüssen, Fuß- und Armbädern bis zu Rücken-, Blitz- und Wechselgüssen und Voll- bzw. Teilbädern. Ergänzend kamen noch Ganzwaschungen, Massagen, Trockenbürstungen, Fango-packungen und auch Sauna und Schwimmen hinzu. Ein weiterer Schwerpunkt der Behandlung lag auf einer intensiven Bewegungstherapie.

Folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Zahl der einzelnen Anwendungen die für meine Untersuchungen relevant waren, da durch sie die Haut längere Zeit mit Wasser in Berührung kam, und auch der Rücken, die Stelle also, an der die Hautproben entnommen wurden, miterfaßt wurde.

Das Schwimmen im geheizten Hallenbad war jeweils auf 30 Min. beschränkt, für die Dauer der Vollbäder galt die gleiche Zeit. Als Badezusätze wurden Moor-, Rosmarin- und Fichtennadelextrakte verwandt. Auch erhielten einige Patienten O_2 - und Stangerbäder. Das Duschen und Baden zu Reinigungszwecken wurde zahlenmäßig miterfaßt, da es ähnliche Reize wie die therapeutischen Anwendungen setzte.

Versuchsgruppe mit hydrotherapeutischer Behandlung

Name	Vb	Schwimmen	Duschen	WeR	RB1	UWM	GW	Sauna
L.	10	5	-	-	-	-	-	-
Z.	2	7	14	1	-	-	9	1
B.	6	9	-	-	-	-	10	-
Be.	6	16	28	-	-	-	5	2
M.	4	17	2	-	1	8	10	3
H.	15	16	-	1	2	-	4	-
Ch.	9	10	-	2	-	-	-	-
S.	7	8	-	2	-	-	-	-
Sch.	6	11	8		-		10	-
H.	2	9	2	3	-	-	10	-

Kontrollgruppe mit Bewegungstherapie

Z.	-	-	-	-	-	-	-	-
K.	-	-	-	-	-	-	-	-
B.	-	-	-	-	-	-	-	-
Sch.	-	-	-	-	-	-	-	-
W.	3	-	3	2	-	-	-	-
E.	2	-	-	-	-	-	-	-
Sch.	1	-	-	1	-	-	-	-
Ei.	1	-	2	1	-	-	-	-
R.	-	-	-	-	-	-	-	-
D.	-	-	-	1	-	-	-	-
N.	-	-	-	1	-	-	-	-

Tab. 1: Aufstellung über die Zahl der hydrotherapeutischen Anwendungen während einer vierwöchigen Kur

Die Art der Erkrankungen der Patienten brachte es mit sich, daß in den meisten Fällen auch eine Pharmakotherapie durchgeführt werden mußte. Doch dürften die Medikamente keinen Einfluß im Sinne einer Veränderung des AS-Musters der Haut gehabt haben, da die Patienten wegen ihrer chronischen Leiden schon vor der Kur ähnliche oder sogar die gleichen Medikamente einnahmen.

2. Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe bestand aus 5 Männern und 6 Frauen, die nach den gleichen Kriterien wie die Versuchspersonen ausgewählt wurden. Auch sie waren Patienten der Klinik, doch bekamen sie auf Grund ihrer Krankheiten nur kleine hydrotherapeutische Anwendungen. Bäder und Güsse, die den Rücken mit Wasser in Berührung gebracht hätten, wurden nach Absprache mit den Ärzten der Klinik so selten wie möglich (siehe Tabelle) verordnet. Die Bewegungstherapie war der Schwerpunkt ihres Kurprogramms. Diese bestand aus einer 1/2-stündigen Morgengymnastik, einer Gymnastik- oder Spielstunde von 10 - 11 Uhr und einer 2-stündigen Wanderung am Nachmittag. Zusätzlich hatten einige Patienten noch Atem- oder Bewegungsübungen bei einer Krankengymnastin.

Die Personen der Kontrollgruppe wurden gebeten, den Rücken nicht allzuoft zu waschen und zur Reinigung nur Teilbäder zu nehmen. Dieser Aufforderung kam erfreulicherweise jeder Teilnehmer nach.

3. Fragebogen

Die Auswahl der Patienten nach o.g. Kriterien geschah mit Hilfe eines Fragebogens, den ich von Herrn MÜLLER übernommen habe, und der z.Z. am Balneologischen Institut der Univ. München als Grundlage für alle AS-Untersuchungen dient.

Noch am Tag der Ankunft der Patienten in der Klinik füllte ich mit ihnen den Fragebogen aus, wobei ich Fragen wie die nach Hautfarbe, Fettgehalt der Haut u.ä. selbst beantwortete um eine möglichst objektive Beurteilung zu erhalten.

Der Fragebogen wurde später noch zu Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen AS-Konzentrationen in der Haut und den durch ihn beschriebenen Merkmalen verwendet. Deshalb ergänzte ich ihn noch in einigen Punkten von denen bisher noch keine Untersuchungen vorliegen: So fügte ich noch Fragen nach Rauchgewohnheiten, Alkoholkonsum und sportlicher Betätigung ein. Auch schien mir eine Frage nach der Häufigkeit des Badens oder Duschens sinnvoll, da schon BIRNKAMMER (3) auf eine Auslaugung der Haut durch Reinigungsbäder hingewiesen hat. Bei der Frage nach der Menge des Trinkens führte ich an Stelle der Angaben "viel" oder "wenig" genaue Zahlenangaben in Dezilitern ein. Neu war auch eine exakte Messung des Turgors mit einem speziellen Turgormeßgerät, welches genaue Zahlenwerte liefert.

Fragebogen

Name: Datum
Vorname:
Geschlecht: 1(m), 2(w)
Gewicht:
Größe:
Beruf:
Wohnort:
Geburtsdatum:
Alter:

Allgemeinbefund:
Konstitutionstyp: pyknisch(1), athletisch(2), Mitteltyp(3),
asthenisch(4)
Allgemeinzustand: sehr gut(1), gut(2), mittelmäßig(3),
schlecht(4)
Ernährungszustand: adipös(1), gut(2), ausreichend(3),
abgemagert(4)
Augenfarbe: grün(1), braun(2), blau(3), grau(4)
Haarfarbe: blond(1), brunn(2), braun(3), schwarz(4)
Körperbehaarung: schwach(1), normal(2), stark(3)

Anamnese:
wichtige Krankheiten:
Allergien: ja(1), nein(2)
gegen was:
Lebersternchen: ja(1), nein(2)
Pigmentstörungen: ja(1), nein(2)

Frauen:
wieviele Geburten:
wieviele Abgänge:
liegt eine Schwangerschaft vor: ja(1), nein(2)
regelmäßige Menses: ja(1), nein(2)
wieviele Tage nach dem 1. Tag der letzten Regel:
Menopause: ja(1), nein(2)
seit wieviel Jahren:

Status praesens der Haut:
Farbe: normalhäutig(2), hellhäutig(1), dunkelhäutig(3)
Turgor: Messwert am Rücken Messwert am Arm
Schweißabsonderung: trocken(1), normal(2), feucht(3)
Status seborrhoicus: trocken(1), normal(2), fett(3)
Dermographismus: positiv(1), negativ(2)

Körperpflege:

Vor wieviel Tagen haben Sie das letzte Mal gebadet oder geduscht:

Welche Zusätze nehmen Sie ins Badewasser: keine(1), Schaumbad(2), teure Badezusätze(3)

Wie lange baden oder duschen Sie:

Wie oft baden oder duschen Sie pro Monat:

Essens-, Trink-, Rauchgewohnheiten:

Essen Sie Salz: wenig(1), normal(2), viel(3)

fettreiche Kost: wenig(1), normal(2), viel(3)

Süßigkeiten, Mehlspeisen: wenig(1), normal(2), viel(3)

Fleisch, Eier: wenig(1), normal(2), viel(3)

Wieviel Liter trinken Sie täglich:

Wieviel ml Alkohol trinken Sie wöchentlich:

Sind Sie: Nichtraucher(1), Gelegenheitsraucher(2), mässiger Raucher (bis 10 Zigaretten täglich) (3), Raucher (10-20 Zig.) (4), starker Raucher (mehr als 20 Zig.) (5)

Sport:

Treiben Sie Gymnastik so, daß Sie zum Schwitzen kommen: ja(1), nein(2)

jetzige Krankheiten:

Eingenommene Medikamente:

4. Hautabrisse

Hautabrisse wurden bei Versuchs- und Kontrollpersonen zu folgenden Zeitpunkten vorgenommen und zwar jeweils am Morgen sofort nach dem Aufstehen, noch vor dem Waschen, der Morgengymnastik oder hydrotherapeutischen Anwendungen:

1. Probe: Am ersten Tag nach der Anreise (Normalwert)
2. Probe: Nach einer Woche Kuraufenthalt, noch vor Beginn der Therapie (Ausgangswert für die Therapie)
3. Probe: Am letzten Tag der Kur, d.h. 4 Wochen nach Probe 1 (Vergleichswert)

Mit Hilfe von Klebefolien, Marke Tesafilm^R der Fa. Beiersdorf wurde das Stratum disjunctum der Hornschicht abgetragen. Diese Methode, die auch als "stripping" bezeichnet wird, wurde zuerst von WOLFF zur Untersuchung des Oberflächenreliefs der Hornschicht eingeführt, SZAKALL benutzte sie zur Darstellung der Barriere als zusammenhängendes Häutchen, PINKUS zählte auf den Folien die Hornzellen. TREGGAR und DIRNHUBER (53) analysierten damit die AS des gesamten Stratum corneum.

Nach Erfahrungen von PRATZEL (27) sind bestimmte Körperpartien, wie Rücken und Beugeseite des Unterarms, besonders geeignet die Hornschicht gleichmäßig abzutragen. Die Arme erschienen mir speziell für die Fragestellung meiner Arbeit ungeeignet, da schon durch sehr häufiges Händewaschen die Ergebnisse hätten verfälscht werden können. Ich wählte daher die Rückenpartie unterhalb der Schulterblätter. Keine Probe wurde an der gleichen Stelle wie eine vorhergehende entnommen, was bei der großen Fläche, die der Rücken bietet, keine Schwierigkeit bedeutete.

Es wurde auf die vorher mit 15 cm abgemessene und markierte Stelle ein 20 cm langer und 1,2 cm breiter Tesafilmstreifen in Längsrichtung aufgeklebt, mit einem Wattebausch (um ein Übertragen der AS der eigenen Haut zu vermeiden) gleichmäßig festgestrichen und dann schnell von unten nach oben abgezogen. Der nächste Streifen wurde wieder exakt auf die gleiche Stelle gebracht, doch dieses Mal von oben nach unten abgezogen. Durch dieses wechselseitige Abziehen kann eine gleichmäßigere Abtragung der Hornschicht erzielt werden.

Die Versuchspersonen saßen mit leicht gebeugtem Oberkörper und stützten die Arme auf einen Tisch. Die Haltung die sie einnahmen mußte bequem sein, da schon kleinste Bewegungen die Abstandsbreite der Markierungsstriche am Rücken verändern konnten.

Es stellte sich die Frage, bis zu welcher Tiefe die Hornschicht abgetragen werden sollte. DREXEL und PRATZEL berichteten mir aus ihrer Erfahrung, daß eine Abtragung der Barriere eine - allerdings nur vorübergehende - Hyperpigmentierung dieser Hautstelle zur Folge haben kann. Da ich diesen Zustand den Patienten nicht zumuten konnte, beschränkte ich mich auf die Entnahme des Stratum disjunctum. Die Entscheidung wurde noch beeinflusst durch die Angaben von SPIER (43), der berichtet, daß der AS-Gehalt der Hornschicht keine Änderung je nach Schichttiefe erfahre, was bedeutet, daß die Oberflächenwerte für die gesamte Hornschicht repräsentativ seien. VLACHOS (55) konnte jedoch feststellen, daß die AS Glutaminsäure und Arginin im Stratum conjunctum in Bezug auf die anderen AS in höherer Konzentration vorliegen als im Stratum disjunctum.

In mehreren Vorversuchen konnte ich feststellen, daß das gesamte Stratum disjunctum mit 8 Tesafilmstreifen abgetragen werden kann. Dieser Befund deckt sich mit dem Be-

richt von SZAKALL, der ebenfalls die Zahl 8 angibt. So plante ich, bei jeder VP und KP 8 Abrisse zu machen, doch mußte ich feststellen, daß bei mehreren Personen die Barriere als zusammenhängendes Häutchen schon auf dem 5., 6. oder 7. Klebestreifen zu sehen war. In diesen Fällen verwarf ich den letzten Streifen und arbeitete mit den restlichen.

Folgende Tabelle gibt einen Überblick über die verschiedene Anzahl der Abrisse, die notwendig waren um die Barriere zu erreichen. (Der Streifen, auf welchem die Barriere als zusammenhängendes Häutchen sichtbar war, wurde nicht mitgezählt):

Versuchsgruppe:

Name	1. Probe	2. Pr.	3. Pr.
L.	6	8	5
Z.	8	8	8
B.	8	8	8
B.	5	5	5
M.	5	8	5
H.	6	5	6
Ch.	8	6	8
S.	8	8	8
Sch.	8	7	8
H.	5	5	5

Kontrollgruppe:

Z.	7	7	7
K.	8	8	8
B.	7	7	5
Sch.	8	8	6
W.	5	6	5
E.	8	8	8
Sch.	7	8	8
E.	8	8	8
R.	6	6	6
O.	7	5	5
N.	8	8	8

Tab. 2:
Zahl der Abrisse

Es ist noch zu erwähnen, daß der Versuch unternommen wurde, eine quantitative Schichtdickenbestimmung über das Volumen der intercornealen Spalten durchzuführen. Zu diesem Zweck wurde die schon genannte Hautstelle vor den Abrissen 3 mal in 10 minütigem Abstand gleichmäßig mit folgender auf einen Wattetupfer aufgetragenen Lösung bepinselt:

100 mg Methylenblau

1,45 g Norleucin

ad 1000 ml H_2O

Die Tesafilmstreifen einer Probe, die vorläufig alle an einer Tischkante befestigt waren, wurden auf eine Länge von 15 cm zugeschnitten und somit der an beiden Enden mit Fingern berührte Teil verworfen. Sie wurden dann einzeln mit Hilfe von Pinzetten in bereits beschriftete Reagenzgläser gelegt und diese mit Parafilm^R verschlossen. Bis zur Weiterverarbeitung wurden sie ca. 1-2 Wochen im Gefrierfach eines Kühlschranks aufbewahrt um ein Bakterienwachstum zu verhindern und einem Zerfall der AS vorzubeugen. BAUER und PRATZEL konnten in mehreren Versuchen feststellen, daß AS bei Zimmertemperatur in wenigen Tagen unter NH_3 -Bildung zerfallen (2,27).

B) Materialverarbeitung

1. Aufbereitung der Proben

Die Tesafilmstreifen wurden in Teile von ca. 1 cm Länge zerschnitten und sämtliche Streifen einer Person in 5 ml 0,1 N HCl eluiert. Als Gefäße eigneten sich am besten Zentrifugengläser von ca. 10 cm Höhe, da in ihnen der gesamte Tesafilm mit Flüssigkeit bedeckt war. Wichtig zu beachten war, die Klebestreifen nicht mit den Fingern zu berühren und sie einzeln in die Elutionsflüssigkeit

einzutauchen, damit sie sofort allseitig benetzt wurden und nicht mit anderen Streifen zusammenkleben konnten. Die Proben wurden 10 Tage lang im Kühlschrank stehen gelassen. Dann zog ich mit einer Pinzette den Klumpen aus aufgeschnittenem Tesafilm im Glas über den Flüssigkeitsspiegel hoch um ihn abtropfen zu lassen. Am nächsten Tag wurde das Eluat in kleine, verschließbare Plastikgefäße abgegossen und bis zur Chromatographie tiefgefroren.

2. Chromatographie

a) Prinzip

Die Auftrennung und Bestimmung der AS erfolgte durch das Verfahren einer Ionenaustauschchromatographie. Sie wurde mit einem automatischen AS-Analysator der Fa. Labotron (Typ CHR 2) durchgeführt.

Nach KARLSON (17) sind Ionenaustauscher Kunstharze, die saure oder basische Gruppen tragen. Die Säuregruppen können je ein Proton abdissoziieren, das aber aus Gründen der Elektroneutralität in der Nähe bleibt. Es kann sich nur entfernen, wenn ein anderes positives Ion an seine Stelle tritt. Gerade dies ist beim Ionenaustausch der Fall, und zwar handelt es sich um einen reversiblen Prozeß wodurch sich nach einiger Zeit ein Gleichgewichtszustand einstellt, der dann wieder aufgegeben wird. Man schichtet ein solches Harz in einem Glasrohr zur Säule, läßt die AS-Lösung oben einsickern und wäscht mit Pufferlösung nach. Das AS-Kation wird zunächst festgehalten, aber wieder abgegeben und gegen Li^+ des Puffers ausgetauscht wenn es in das Zwitterion übergeht. Wie stark eine AS vom Ionenaustauscher festgehalten wird, hängt von der Länge und der Zusammensetzung der Säule, dem pH des Puffers, der Elutionstemperatur und vom Ionisationszustand, d.h. der Dissoziationskonstante K der einzelnen Gruppen ab.

Die basischen AS haben die stärkste Bindung an das Harz, während die sauren AS am wenigsten stark gebunden werden; dazwischen liegen die neutralen AS.

Der Austauschprozess wiederholt sich von Schicht zu Schicht, bis die AS in die abtropfende Lösung, das Eluat, wandert. Zur quantitativen Bestimmung läßt man die AS im Eluat in einem kochenden Wasserbad mit Ninhydrinreagens reagieren. Es findet eine Farbreaktion statt, die nach folgendem Schema verläuft:

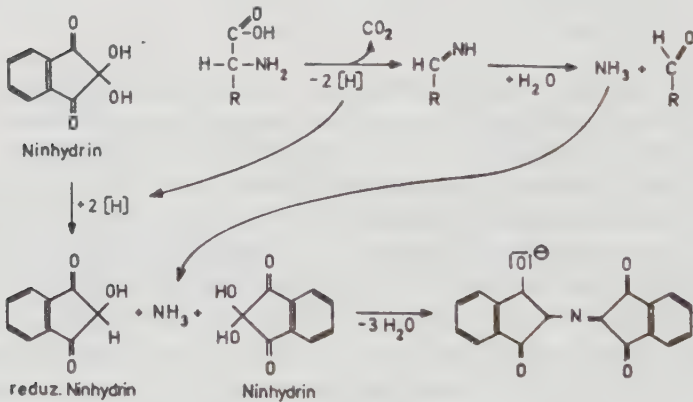


Abb. 1: Ninhydrinreaktion

(nach Karlson)

Die AS wird zum nächstniedrigeren Aldehyd und CO_2 abgebaut. Der blaue Farbstoff bildet sich aus dem Reagens und dem freiwerdenden Ammoniak.

Mit einem Photometer wird die Intensität der Blaufärbung gemessen und die Extinktionswerte auf einen Schreiber übertragen.

b) Aufbau des AS-Analysators

Der AS-Analysator der Fa. Labotron ist ein Gerät, in dem alle Vorgänge von der Eingabe des AS-Konzentrats bis zur photometrischen Bestimmung und Aufzeichnung auf einem Schreiber automatisch durch elektronische Steuerung ablaufen.

Zum besseren Verständnis will ich die einzelnen Bestandteile des Geräts kurz beschreiben. (Eine ausführliche Beschreibung findet sich in der Bedienungsanleitung des Gerätes)

1) Der automatische Probeneingeber

Für die saure/neutrale Säule und für die basische Säule ist je ein Probengeber vorhanden. Er besteht aus 8 Schleifen aus Teflon-Kapillarschlauch, deren Volumen genau bestimmt ist und in unserem Falle zwischen 192 - 222 μ l lag. Die Proben wurden mit Hilfe einer Spritze in die Schleifen gesogen, doch um ein Verschleppen von Probenresten zu verhindern mußten diese vor jeder neuen Füllung zuerst 2 x mit Aquabidest. gespült werden.

Der Probengeber für die saure/neutrale Säule wird beim Ablauf der vorgewählten Äquilibrierungszeit und Start der Elutionszeit durch Puffer 1 jeweils um eine Probenschleife durch elektronische Steuerung weitergedreht, der Probengeber der basischen Säule beim Ablauf der vorgewählten Elutionszeit durch Puffer 2 und Start der Elutionszeit der basischen Säule. (Die Probengeber können aber auch mit der Hand weitergeschaltet werden, was zum Auffüllen der Schleifen notwendig ist)

Durch den jeweiligen Puffer wird die Probe aus den Schleifen auf die Harzoberfläche befördert, wo dann die Trennung der AS beginnt.

Der Vorteil der automatischen Probeneingabe liegt vor allem darin, daß 6 Proben (in unserem Falle immer in Position 1 ein Testgemisch und dann 5 Hauteluat) ohne Aufsicht gefahren werden können, und so auch die Nachtzeit genutzt werden kann. Der Durchgang einer Probe dauerte 8 Stunden, so daß nur jeden 2. Tag die Schleifen neu gefüllt werden mußten. Auch wird die Genauigkeit der Probeneingabe - ein genau festgelegtes Volumen - und dadurch die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wesentlich erhöht.

2) Die Säulen

Um eine möglichst gute und vollständige Auftrennung der AS zu erhalten, verwendeten wir ein Zweisäulensystem. Auf einer 52 cm langen, 0,4 cm starken Säule wurden die sauren und neutralen AS und auf einer 23 cm langen und 0,4 cm starken Säule die basischen AS getrennt.

Die Proben, die Puffer, die Regenerations- und Äquilibrationsflüssigkeit werden durch ein Zuleitungsstück an der Säulenoberseite an das Harz transportiert. Am Säulenende befindet sich ein Abflußstück, das zum Reaktionsbad leitet.

Die Säulen sind mit einem Temperiermantel umgeben, durch den kontinuierlich Wasser bestimmter Temperatur fließt. Während der Chromatographie kann das Wasser zu einem bestimmten und beliebig festzusetzenden Zeitpunkt in wenigen Minuten von T 1 auf T 2 aufgeheizt werden. In unserem Fall wurde beim Erscheinen des ALA von 30°C auf 50°C aufgeheizt. Das Abkühlen erfolgt mit Hilfe von Kühlwasser.

3) Die Reagenzeinheit

Die Reagenzeinheit besteht aus den Vorratsflaschen für die Puffer, die Lauge und das Ninhydrin. Von den Flaschen gehen Schlauchleitungen zu den Pumpen. Alle Puffervorratsflaschen haben eine H_2SO_4 Falle als Aufsatz um zu verhindern, daß die Puffer bei Luftzutritt durch Ammoniak verunreinigt werden.

Der Ninhydrinvorratsflasche, die aus braunem Glas besteht, ist ein System von 2 Flaschen nachgeschaltet was dafür sorgt, daß das frei werdende Volumen mit Stickstoff gefüllt wird. Stickstoff befindet sich in der ersten Flasche, in der zweiten Flasche, die mit der Außenluft in Verbindung steht, ist Paraffinöl enthalten.

Folgende Reagenzien wurden verwendet:

Für die saure/neutrale Säule:

Puffer 1 (pH 3,10):

4,827 g LiOH (98%ig)
14,03 g Citronensäure
1,0 g Phenol
5,0 ml Thiodiglykol (gereinigt)
2,0 ml Brij
12,5 ml HCl (32%ig)

ad 1000 ml Wasser

Puffer 2 (pH 4,25):

4,827 g LiOH (98%ig)
14,03 g Citronensäure
1,0 g Phenol
5,0 ml Thiodiglykol (gereinigt)
2,0 ml Brij
9,1 ml HCl (32%ig)

ad 1000 ml Wasser

Für die basische Säule:

Puffer 3 (pH 4,75):

4,827	g	LiOH (98%ig)
14,03	g	Citronensäure
1,0	g	Phenol
5,0	ml	Thiodiglykol (gereinigt)
2,0	ml	Brij
6,7	ml	HCl (32%ig)

ad 1000 ml Wasser

Puffer 4 (pH 5,42):

21,0	g	Citronensäure
300,0	ml	NaOH (1 N)
1,0	g	Phenol
2,0	ml	Brij
4,9	ml	HCl (32%ig)

ad 1000 ml Wasser

Ninhydrinreagenz:

20,0	g	Ninhydrin
0,625	g	Hydrindantin
750	ml	DMSO
250	ml	Lithiumacetatpuffer (4 N)

Zur Regeneration der Säulen:

Lithiumlauge (0,3 n)

Da das Ninhydrinreagenz ständigen Veränderungen unterliegt, mußte das Gerät immer wieder neu gesiebt werden. So wurde jedes 6. Chromatogramm als Testlauf durchgeführt. Dazu wurden verwendet:

- a) für die lange Säule: Bender & Hobein-Test in einer Konzentration von 50 nMol/ml
- b) für die kurze Säule: Hamilton-Test Typ P-B in einer Konzentration von 50 nMol/ml

4) Die Pumpeneinheit

Die Labotron-Pumpen arbeiten nach dem Kolbenverdrängungsprinzip. Ihr Antrieb erfolgt durch einen Synchronaußenläufermotor wodurch eine größtmögliche Förderkonstanz gewährleistet wird. Die Einstellung der Fördermenge erfolgt über eine Mikrometerschraube. Die Pufferpumpe bringt den jeweiligen Puffer und die Lauge auf die Säule, während die Ninhydrinpumpe dem Eluat das Ninhydrinreagenz zuführt. Die Pufferpumpe ist mit einer Vorrichtung zur Entgasung des Puffers versehen. Die Pumpen werden durch elektronische Steuerung je nach Bedarf ein- bzw. ausgeschaltet.

5, Das Reaktionsbad

Das Reaktionsbad besteht aus einem kochendem Wasserbad, durch das ein Teflonschlauch geführt wird. Die Heizzeit ist vom Volumen des Schlauches und der Fördergeschwindigkeit abhängig. Im Reaktionsbad findet die Farbreaktion der AS mit dem Ninhydrinreagenz statt.

6) Das Temperierbad

Das Temperierbad regelt die Säulentemperatur und kann, gesteuert durch Kontaktthermometer, aufgeheizt oder durch Kühlwasser abgekühlt werden.

7) Das Photometer und der Schreiber

Das Photometer ist mit einem Philipps-Mehrkanalschreiber gekoppelt. Im Photometer befinden sich PM-Küvetten mit einer Schichtdicke von 5 mm und 2 mm und Fenstern aus optisch geschliffenem Glas. Gemessen wird bei einer Wellenlänge von 570 nm und 440 nm und zwar in folgender Kombination: 570 nm/5mm, 570nm/2mm und 440 nm/2mm. Der Schreiber registriert die Veränderung des Lichtdurchgangs, die über Photozellen gemessen wird, auf einem Papier welches im Extinktionsmaßstab eingeteilt ist.

8) Schematische Darstellung des Labotron-Gerätes

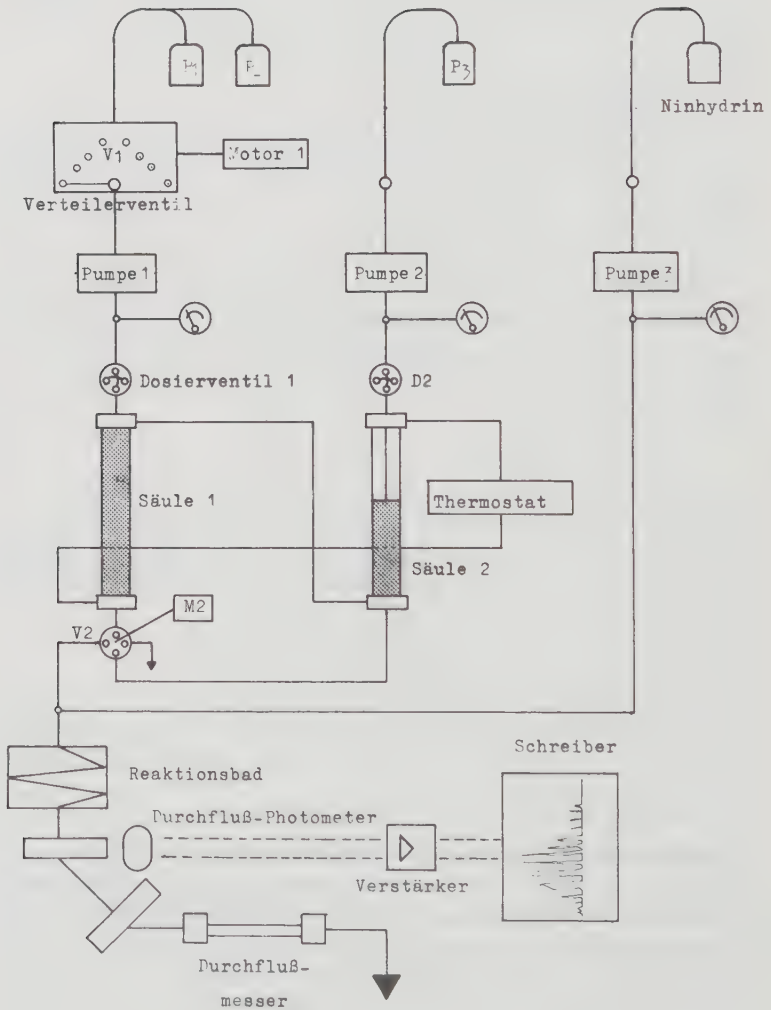


Abb. 2

(nach Labotron Bedienungsanleitung)

9) Die Datenerfassungsanlage (Fa. Siemknecht, Erlangen)

Die Analogsignale der 3 Kolorimeterkanäle werden im Telekopp-
ler mit einem Multiplexer im 10 sec-Rhythmus abgetastet, di-
gitalisiert, parallel-seriell gewandelt und auf einen Fern-
schreiber (Teletype ASR 33) übertragen. Außerdem werden die
Daten auch auf einen Lochstreifen im ASCII-Code gestanzt. Von
einem Probenlauf erhält man also folgende Ergebnisse:

- a) Das Chromatogramm
- b) Die Papierrolle mit den aufgedruckten Transmissionswerten
- c) Den Lochstreifen, auf dem die auf die Papierrolle aufge-
druckten Werte eingestanzt sind.

3. Ordnen der gewonnenen Daten

Die Chromatogramme wurden mit folgender Zahlenkombination be-
schrieben: XYY, wobei X die laufende Nummer der Probenein-
gabe und Y die Patientenummer bedeutete. Sie wurden auf Feh-
ler, wie z.B. schlechte Trennung der einzelnen Peaks überprüft,
evtl. wiederholt und dann abgeheftet.

Die Lochstreifen mußten täglich gewechselt werden, da eine
Rolle genau für 3 Probenläufe ausreichte. Das Wechseln geschah
am besten täglich zur gleichen Zeit und zwar dann, wenn die
Basislinie des letzten Chromatogramms nach ARG wieder erreicht
war und der Startpeak des neuen Chromatogramms noch nicht be-
gonnen hatte. Da die Durchschaltung des Fernschreiblinien-Stroms
beim Einschalten um einige Sekunden verzögert wurde, waren ca.
1 m Lochstreifen zwischen zwei Chromatogrammen nur mit Trans-
portlöchern gestanzt, womit eine sichtbare Lücke entstand. An
diesen Stellen wurden die Lochstreifen dann auch getrennt.

C) Die Auswertung der Chromatogramme

1. Beschreibung des Fortran-Programms "CHROMA"

Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte mit dem von PRATZEL entwickelten Fortran-Programm "CHROMA" (29). Mit diesem Programm können aus chromatographischen Meßpunkten die Flächeninhalte der Peaks bestimmt werden. Es eignet sich bestens für die Auswertung größerer Versuchsreihen, denn es bietet folgende Vorteile:

1) Eine sehr große Zeitersparnis

- a) bei der Auswertung der Chromatogramme gegenüber der früher verwandten Berechnung der einzelnen Peakflächen mit Hilfe von Schablonen und durch Auszählen der einzelnen Meßpunkte
- b) bei der Chromatographie, da mit dieser Methode auch die Flächen von unvollständig getrennten Peakgruppen berechnet werden können, was bedeutet, daß die Säulen kürzer gewählt und dadurch die Laufzeit erheblich verkürzt werden kann.

2) Eine große Genauigkeit der Berechnungen

Der Fehler, auch bei unvollständig getrennten Peakgruppen ist kleiner als 0,5 %.

Im ersten Teil des Programmablaufs werden zunächst die Peakbereiche von der Basislinie getrennt. Die Peakgruppen werden nach folgenden Kriterien ausgewählt:

Aus der Summe der Beträge des 1. und 2. Differenzenquotienten (Peakgruppenauswahlkriterium) des Transmissionsverlaufs wird ein Wert gebildet der schnell ansteigt wenn ein Peakbereich vorliegt. Außerdem müssen die Mindestpunktzahl für einen Peak, die Höchstpunktzahl eines Sattels und die Mindesthöhe eines Peaks über der Basislinie erreicht werden.

Es gelten folgende Werte:

Peakgruppenauswahlkriterium	0,1
Mindestpunktzahl eines Peaks	6
Maximalpunktzahl eines Sattels	4
Mindesthöhe eines Sattels	1,0 mV

Die Basislinie wird aus dem letzten aktuellen Basiswert vor Anfang einer Peakgruppe und dem ersten Basispunkt danach linear interpoliert.

Im weiteren Verlauf wird jede Peakgruppe einzeln untersucht. Zunächst wird die Anzahl der einzelnen Peaks bestimmt. Wenn in einer Gruppe nur ein Peak gefunden wurde, folgt mit einem minimalen Rechenaufwand eine nichtparametrische Auswertung durch einfache Addition der korrigierten Meßpunkte.

Werden mehrere Peaks gefunden, müssen zunächst die Parameteranfangswerte für die anschließende iterative Anpassung des Verlaufs der Meßpunkte an eine Peakfunktion bestimmt werden. Dies geschieht dadurch, daß zunächst für einen Peak eine symmetrische Gaußkurve angenommen wird. Aus dem Schnittpunkt des linearen Anteils mit der Nulllinie läßt sich die Lage des Maximums und aus dem Neigungswinkel die Dispersion errechnen. Diese errechneten Parameterwerte werden als Anfangsschätzung für die etwas abweichenden Parameter einer schiefen Gaußkurve verwendet. Nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate nach Newton werden die Parameter so lange verstellt, bis eine tolerierte minimale Abweichung zwischen experimenteller und errechneter Kurve erreicht ist.

Die Güte der Anpassung ist für die gesamte Gruppe aus dem Fehlerglied ("Mittlere Abweichung der berechneten Peakfläche") zu entnehmen. Auch kann die Summe aller Peakflächen mit der Summe der Meßpunkte (nichtparametrische Auswertung) verglichen werden.

2. Tabelle der ausgedruckten Daten

Als Rechenergebnis werden folgende Daten ausgedruckt:

- 1) Meßpunkt-Nummer für Maximum
- 2) Retentionszeit
- 3) Peakhöhe
- 4) Fläche
- 5) Prozentuale Abweichung der Fläche
- 6) Nichtparametrische Berechnung der Fläche
- 7) Flächen je Gruppe
- 8) Sigma-An und Sigma-Ab
- 9) Excess
- 10) Schiefe
- 11) Auflösung

(siehe Tab. 3)

3. Extinktions- und Transmissionskurve eines Hornschichteluates

Vom Programm wurden zusätzlich noch Zeichnungen angefordert.
Wir erhielten folgende Kurven:

- 1) Transmissionskurven von Testgemischen und Hornschichteluaten (Beispiel siehe Abb. 3)
- 2) Extinktionskurven von Testgemischen und Hornschichteluaten mit korrigierter Basislinie. (Beispiel siehe Abb. 4)

Isotuntersuchung "Risho-en" 1973 (Bader)										
Peak	Maxpunkt	Zeit	Höhe	Fläche	Abweichung	Microparam.	Flächen in Gruppe	sigma-an	sigma-ab	Excess
CYS	94	13,3	0,026	0,13		0,13	0,71			
HAR	164	36,7	0,060	2,59		2,59	0,14			
3	201	49,0	0,107	5,42	0,40 %	24,18	2,61	1,44	1,44	1,2245
ASP	209	51,9	0,910	23,82	0,40 %	24,18	2,61	0,74	0,74	0,437
THR	256	70,9	0,77	36,20	0,07 %	33,75	11,83	0,96	0,96	0,5633
SER	283	76,5	3,804	17,60	0,07 %	133,05	11,83	0,80	0,80	0,5857
ASN	313	86,4	0,073	2,50	0,03 %	3,83	3,08	0,98	0,98	0,0
GLU	327	91,1	0,273	11,87	0,03 %	5,83	3,08	1,23	1,23	0,0
GLN	247	97,7	0,043	2,30	0,03 %	15,51	3,08	1,50	1,50	0,0
GLY	504	150,3	1,313	58,99	0,05 %	125,51	11,99	1,27	1,27	0,0
ALA	540	62,2	5,705	38,31	0,05 %	125,51	11,99	1,54	1,54	0,0
CIT	567	77,2	0,403	29,76	0,05 %	125,51	11,99	2,06	2,06	0,0
αABS	624	19,0	0,020	0,38		0,38	-0,01			
VAL	680	208,7	0,138	13,90		13,90	6,60			
AIL	772	239,7	0,05	8,95		8,95	0,88			
ILE	818	254,7	0,083	5,52	0,05 %	33,95	3,25	0,83	0,83	0,0
LEU	936	260,9	0,023	3,62	0,05 %	33,95	3,25	0,83	0,83	0,0
VAL	854	260,7	0,605	18,78	0,05 %	33,95	3,25	0,83	0,83	0,0
TYR	896	280,7	0,122	5,65	0,05 %	33,95	3,25	1,31	1,31	0,0
PHE	943	296,3	0,043	1,92		1,92	0,19			
-	1054	326,9	0,01	0,63	0,51 %	142,25	13,38	1,22	1,22	0,0
-	1041	329,1	7,462	130,08	0,51 %	142,25	13,38	0,49	0,49	0,0
TRP	1054	339,4	0,084	0,99	0,51 %	142,25	13,38	0,33	0,33	0,0
ORN	1153	359,7	6,024	0,47	0,08 %	2,56	0,49	0,56	0,56	0,0
LYS	1139	361,5	0,01	1,90	0,08 %	2,56	0,49	0,59	0,59	0,0
MHIS	1150	365,6	3,013	0,21	0,08 %	2,56	0,49	0,70	0,70	0,0
HIS	1166	378,7	0,430	10,81		10,81	1,62			
AMM	1212	586,0	0,57	8,90		8,90	0,70			
ARG	1344	430,0	0,185	9,72		9,72	0,99			

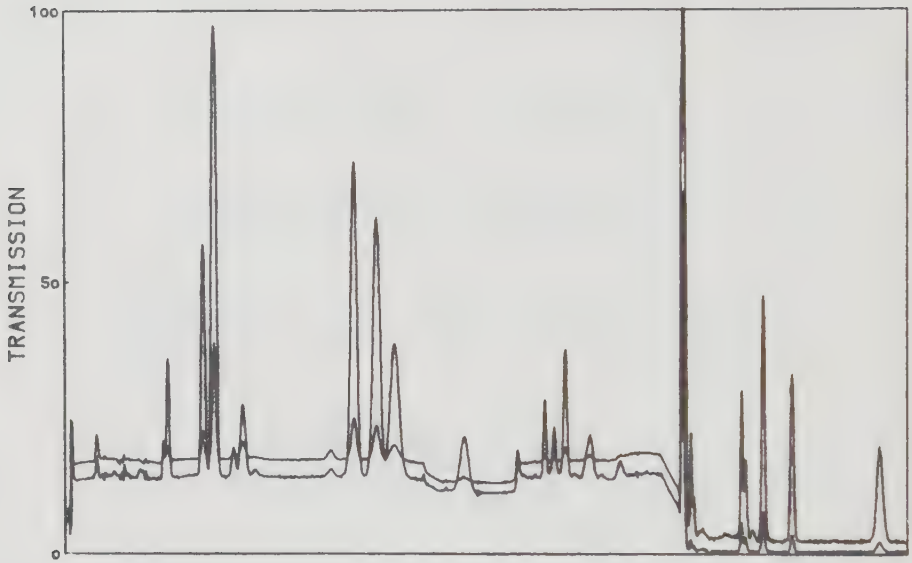
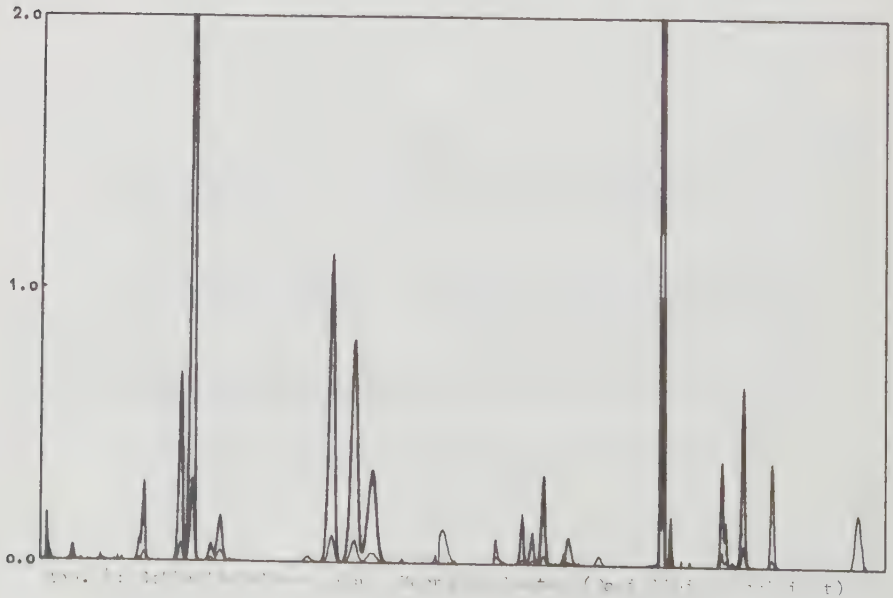


Abb. 3: Transmissionskurve einer Hornblende.



IV. Ergebnisse

Ausgewertet wurden die Hornhautabrisse von 10 Versuchs- und 11 Kontrollpersonen, von denen jeweils 3 Proben vorlagen. Insgesamt waren also 63 Chromatogramme von Hornschichteluaten und 17 Chromatogramme von Testgemischen vorhanden.

Doch durch einen Zwischenfall im Rechenzentrum konnten von Probengruppe 1 vier Chromatogramme nicht in die vergleichenden Untersuchungen von P 1 und P 2 bzw. 3 miteinbezogen werden. Bei den weiteren Berechnungen, wie Fragebogenauswertung und Korrelationsmatrix konnte wieder mit allen Werten gerechnet werden.

Von T 8 und dem basischen Anteil von T 6 lagen durch einen Defekt des Lochstreifenstanzgerätes keine Werte vor. Es wurden dafür die Werte der nachfolgenden Testgemische eingesetzt.

1. Identifizierung der AS

In den Testgemischen waren folgende 22 AS enthalten:

CYS ASP HYP THR SER GLU PRO GLY ALA VAL CYSS MET ILE LEU TYR
PHE TRP ORN LYS HIS AMM ARG

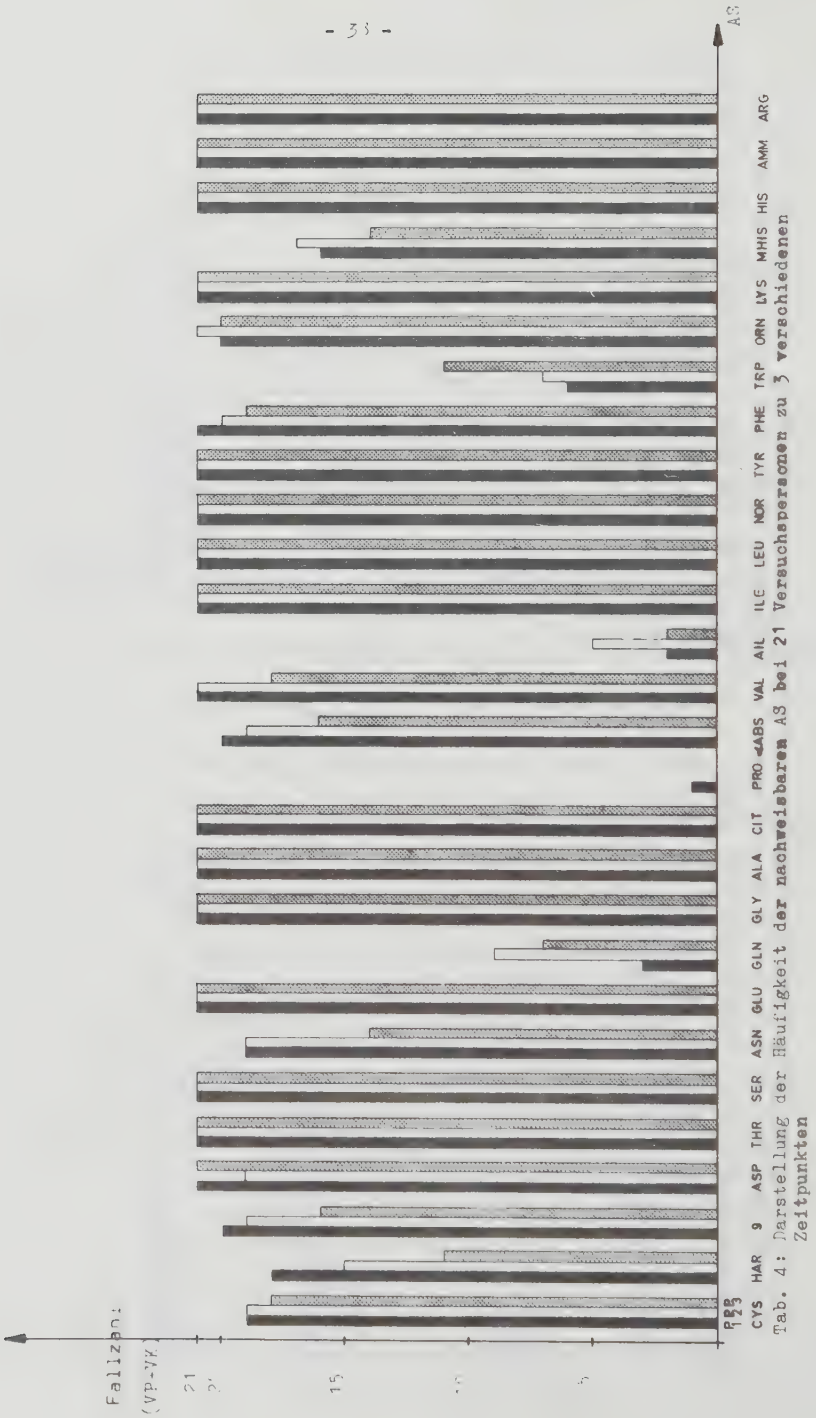
In den Hautproben konnten insgesamt 27 AS und Harnstoff identifiziert werden. Sie erschienen in dieser Reihenfolge auf dem Chromatogramm:

CYS TAU HAR ASP THR SER ASN GLU GLN PRO GLY ALA CIT α ABS VAL
AIL ILE LEU NOR TYR PHE TRP ORN LYS MHIS HIS AMM ARG

Die AS NOR ist kein Bestandteil der menschlichen Epidermis, sie wurde in einer Lösung auf die Haut aufgetragen.

Nach HAR erschien sehr oft ein Peak, der jedoch noch nicht identifiziert werden konnte. Er erhielt die Nr. 9 und wurde wegen seines regelmäßigen Auftretens in die Berechnungen miteinbezogen.

Nach NOR erschien in einigen Fällen ein Peak, der die Nr. 43 erhielt.



Da die AS TAU GLN AIL PRO TRP und Nr. 43 nur bei wenigen Personen die Nachweisgrenze erreichten wurden sie nicht ausgewertet. (Tab. 4)

2. Schichtdickenbestimmung der Haut

Gestützt auf die Versuche von MALI (19) wurde versucht, die Dicke des Stratum disjunctum zu bestimmen und es exakt bis zur Barriere abzutragen. MALI isolierte die Barriere dadurch, daß er excidierte Haut in 1 %iger Methylenblaulösung mazerierte. Dabei blieb die Barriere ungefärbt, so daß sich das gefärbte Stratum disjunctum von ihm abkratzen ließ.

Dieses Ergebnis war in vivo nicht reproduzierbar. Die Eindringtiefe der Methylenblaulösung war von Patient zu Patient sehr verschieden. Oft war schon nach dem 3. oder 4. Tesafilmabzug keine Farbe mehr zu erkennen, obwohl die Barriere erst auf dem 8. Streifen als zusammenhängendes Häutchen sichtbar wurde. Da die Lösung nicht tief genug eindrang, mußte auch die Berechnung der Schichtdicke mit Hilfe der aufgetragenen Norleucinlösung fallengelassen werden.

3. Vergleichende Untersuchung der relativen AS-Konzentrationen

A) Methode

a) Berechnung von Vergleichswerten

Begründung:

Um vergleichbare Werte für die einzelnen AS zu erhalten, mußte der gesamte Datensatz korrigiert werden. Denn die Extinktionsdifferenzen, die durch die Veränderungen der Ninhydrinreagenz bedingt waren, mußten ausgeglichen werden. Die Korrektur erfolgte mit Hilfe der Werte der Testgemische, die als Eichsubstanzen dienten, da sie konstant die gleiche AS-Menge enthielten.

Allgemeine Korrektur auf gleiche Empfindlichkeit:

Die Flächenwerte der AS der Testgemische wurden durch Multiplikation mit einem Faktor korrigiert

Fläche der AS_x sauer x F₁ = korrigierte Fläche der AS_x

Fläche der AS_y basisch x F₂ = korrigierte Fläche der AS_y

Der Faktor bestand aus einem Quotienten der gebildet wird aus der Summe der Flächenwerte der sauren (204) bzw. basischen (94) AS aller Testgemische und der Summe der Flächenwerte der sauren bzw. basischen AS des jeweiligen Testgemisches (Wert a bzw. b)

$$F_1 = \frac{204}{\text{Wert a}}$$

$$F_2 = \frac{94}{\text{Wert b}}$$

Berechnung der Fläche/nMol:

Aus den korrigierten Flächenwerten wurden für jede AS die Mittelwerte gebildet und diese durch 50 nMol dividiert (Menge des sauren bzw. basischen Testgemisches)

$$\frac{\text{MW der AS}_x}{50 \text{ nMol}} = X \left[\frac{\text{Fläche}}{\text{nMol}} \right] \quad \frac{\text{MW der AS}_y}{50 \text{ nMol}} = Y \left[\frac{\text{Fläche}}{\text{nMol}} \right]$$

Individuelle Korrektur auf gleiche Empfindlichkeit:

Der korrigierte Datensatz wurde dadurch erhalten, daß die AS-Flächenwerte der Hautproben einzeln durch die entsprechenden X- und Y-Werte dividiert wurden.

$$\frac{\text{Fläche der AS}}{X(\text{bzw. } Y)} = \text{Korr. AS} \left[\frac{\text{nMol}}{\text{ml Probe}} \right]$$

Zur Korrektur nicht im Testgemisch vorhandener AS wurden vom Hersteller vorgegebene Eichzahlen verwendet.

Berechnung der Relativwerte:

Alle Auswertungen wurden unter Verwendung von Relativwerten durchgeführt, da durch sie die beste Basis für Vergleiche gegeben ist.

Die Relativwerte wurden zu der AS ALA gebildet

$$\frac{\text{Korr. AS}}{\text{Korr. ALA}} = \text{Relativwert der AS}$$

(Werte siehe Abb. 5)

b) Statistische Verfahren

Die AS-Werte der Hornschicht der VP und KP, ebenso die AS-Werte der verschiedenen Probenentnahmen wurden mit Hilfe des Computers auf signifikante Unterschiede untersucht.

Es wurden für jede AS berechnet:

- N = Stichprobenumfang
- x = Mittelwert
- f_m = Fehler des Mittelwerts = $\frac{s}{\sqrt{N}}$
- s = Standardabweichung
- x - y = Differenz der Mittelwerte
- s^2 = Varianz
- N - 1 = Zahl der Freiheitsgrade

Da alle Proben hinsichtlich des untersuchten Merkmals (AS) angenähert einer normal verteilten Grundgesamtheit entstammten, konnte der t - Test nach STUDENT durchgeführt werden (10). Hierbei wird durch Vergleich mit einer Prüfverteilung gleicher Varianz die Wahrscheinlichkeit P angegeben, mit der zu erwarten ist, daß sich die Mittelwerte nur zufallsmäßig um die vorgegebene absolute Differenz unterscheiden (Nullhypothese). Für den erhaltenen P-Wert wurde eine Schranke von 0,05 festgesetzt, was bedeutet, daß für alle P-Werte ≤ 0.05 angenommen werden kann, daß es sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von nur 5 % um einen signifikanten Unterschied der untersuchten Mittelwerte handelt.

VAR	NO	MEAN	S.D.	S.E.	JP	MEAN	SAMPLE	MAXIMUM	MINIMUM	RANGE
CYS	1	0.0191	0.0075	0.0019		0.0310	17	0.0310	0.0000	0.0320
HAR	2	1.1759	0.8408	0.2039		3.0390	17	3.0390	0.0320	3.0370
9	3	0.0592	0.0287	0.0070		0.1090	17	0.1090	0.0	0.1090
ASP	4	0.3624	0.3115	0.0755		1.3930	17	1.3930	0.1090	1.2350
THR	5	0.6649	0.1358	0.0332		1.0530	17	1.0530	0.4930	0.5900
SER	6	2.8538	0.5813	0.1652		5.0310	17	5.0310	2.1200	2.9110
ASN	7	0.0494	0.0355	0.0095		0.1330	17	0.1330	0.0	0.1330
GIU	8	0.1881	0.0831	0.0232		0.3590	17	0.3590	0.0730	0.2810
GIY	9	1.4832	0.3743	0.0908		2.7970	17	2.7970	1.1730	1.5130
ALA	10	146.9701	40.2301	9.8300		205.7480	17	205.7480	74.3110	132.4370
CIT	11	0.0092	0.0059	0.0014		0.0290	17	0.0290	0.0040	0.0220
αABS	12	0.0167	0.0195	0.0047		0.0610	17	0.0610	0.0	0.0510
VAL	13	0.2717	0.0717	0.0174		0.4930	17	0.4930	0.1900	0.3030
ILE	14	0.1409	0.0481	0.0117		0.2920	17	0.2920	0.0930	0.2030
LEU	15	0.1087	0.0439	0.0105		0.2420	17	0.2420	0.0700	0.1720
NOR	16	0.3703	0.1385	0.0335		0.6340	17	0.6340	0.1500	0.4840
TYR	17	0.1691	0.0498	0.0121		0.2860	17	0.2860	0.1130	0.1710
PHE	18	0.0797	0.0413	0.0100		0.2000	17	0.2000	0.0330	0.1520
ORN	19	0.0385	0.0277	0.0057		0.1270	17	0.1270	0.0020	0.1250
LYS	20	0.0889	0.0311	0.0075		0.1590	17	0.1590	0.0430	0.1250
WHIS	21	0.0197	0.0188	0.0045		0.0750	17	0.0750	0.0	0.0750
HIS	22	0.4041	0.1992	0.0493		1.0180	17	1.0180	0.0500	0.9500
AMM	23	0.5888	0.2792	0.0677		1.1550	17	1.1550	0.2440	0.9210
ARG	24	0.2507	0.1755	0.0425		0.6190	17	0.6190	0.0470	0.5720

Abb. 5: Relative molare Konzentrationen der AS bezogen auf ALA= 1 mMol/ml bei 17 VP (Probe 1)
(Nr. 10 = ALA = Bezugswert in mMol/ml Probe)

B. Ergebnisse

1. Veränderungen der AS-Werte nach einer Woche Kuraufenthalt (Vergleich von Probe 1 und Probe 2)

Es konnte festgestellt werden, daß nach einer Woche Kuraufenthalt ohne therapeutische Anwendungen (VP und KP wurden bei dieser Fragestellung gemeinsam untersucht) die relativen Konzentrationen von acht AS zunahmen. ($P \leq 0,05$)

Die MW der Differenz der MW von P 1 und P 2 wurden für jede AS berechnet und daraus die prozentuale Zunahme der relativen AS-Konzentration in Bezug auf den MW der AS von P 1.

Wir erhielten folgende Zahlenwerte:

Nr. 9	+ 66 %	LEU	+ 35 %
ASN	+ 68 %	TYR	+ 36 %
GLU	+ 41 %	ORN	+ 61 %
ILE	+ 32 %	HIS	+ 27 %

(siehe Abb. 6)

2. Veränderungen der AS-Werte nach vier Wochen Kuraufenthalt (Vergleich von Probe 1 und Probe 3)

Bei einem Vergleich der Proben, die den Patienten (VP und KP) am 1. Tag und am letzten Tag des Kuraufenthaltes entnommen wurden, ist eine deutliche Zunahme der AS GLU ORN und LYS zu erkennen. ($P \leq 0,05$)

GLU	+ 55 %
ORN	+146 %
LYS	+ 40 %

(siehe Abb. 7)

3. Vergleich der AS-Werte vor Therapiebeginn mit den Werten nach Beendigung der Kur

(Vergleich von Probe 2 und Probe 3)

a) VP und KP

Bei gemeinsamer Untersuchung von KP und VP konnte eine signifikante Zunahme der AS SER CIT LEU ORN LYS HIS nach dreiwöchiger Kur festgestellt werden, wobei noch nicht zwischen Hydro- und Bewegungstherapie unterschieden worden ist.

SER	+ 11 %	ORN	+ 80 %
CIT	+ 69 %	LYS	+ 34 %
LEU	+ 25 %	HIS	+ 17 %

(siehe Abb. 8)

b) Versuchsgruppe mit hydrotherapeutischer Behandlung nach KNEIPP

Bei einem Vergleich der Ausgangswerte für die therapeutische Behandlung (P2) und der Werte nach Abschluß der Kur (P3), läßt sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von nur 1 % eine deutliche Abnahme von HAR und mit P-Werten zwischen 0,04 und 0,01 ein Anstieg der AS CIT ORN LYS und HIS feststellen.

HAR	- 56 %	CIT	+ 48 %
		ORN	+ 128 %
		LYS	+ 62 %
		HIS	+ 28 %

(siehe Abb. 9)

c) Kontrollgruppe mit Bewegungstherapie

Bei einem Vergleich der schon o.g. Proben der Kontrollgruppe läßt sich bei einem P-Wert von 0,05 kein signifikanter Unterschied der MWW der AS feststellen.

Prozentuale Änderung der Diff. der MW (P1 - P2)
bezogen auf den MW der Probe 1

$P < 0.05$

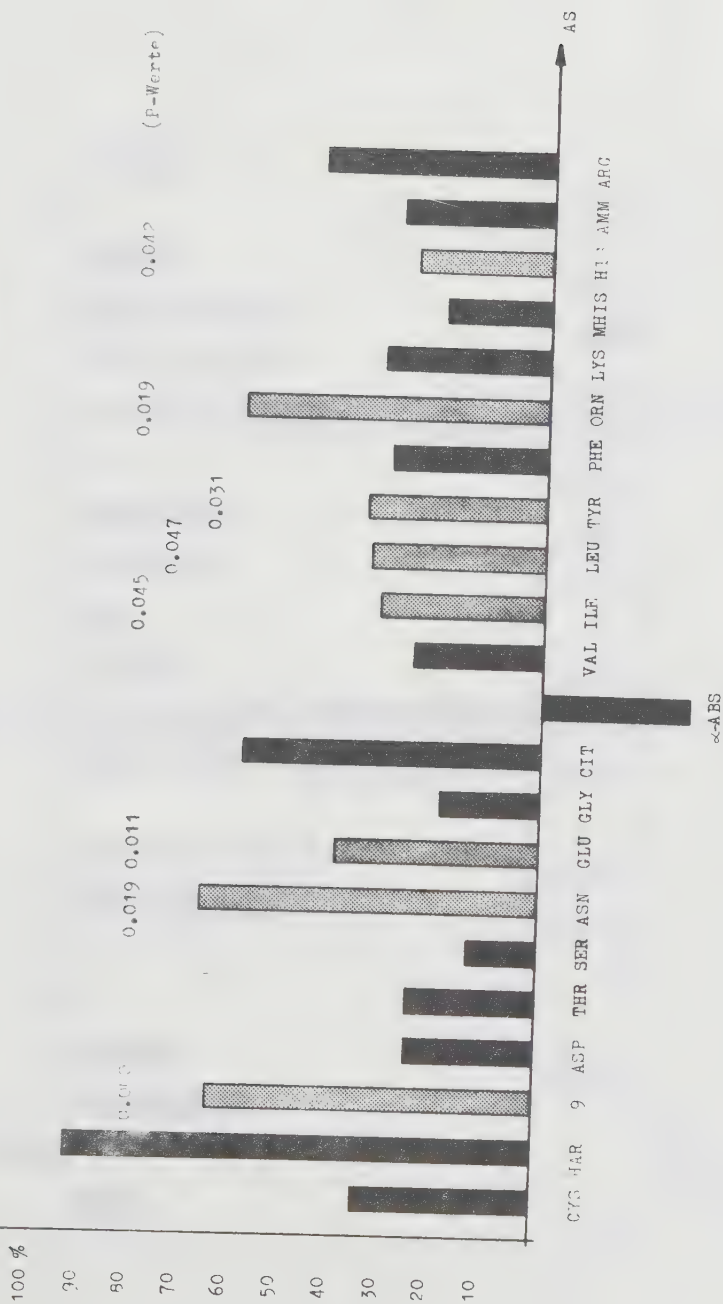


Abb. 6: Veränderungen der AS- Werte (VP + VK) nach einer Woche Kuraufenthalt;
(nichtsignifikante Änderungen: schwarz ausgefüllte Säulen)

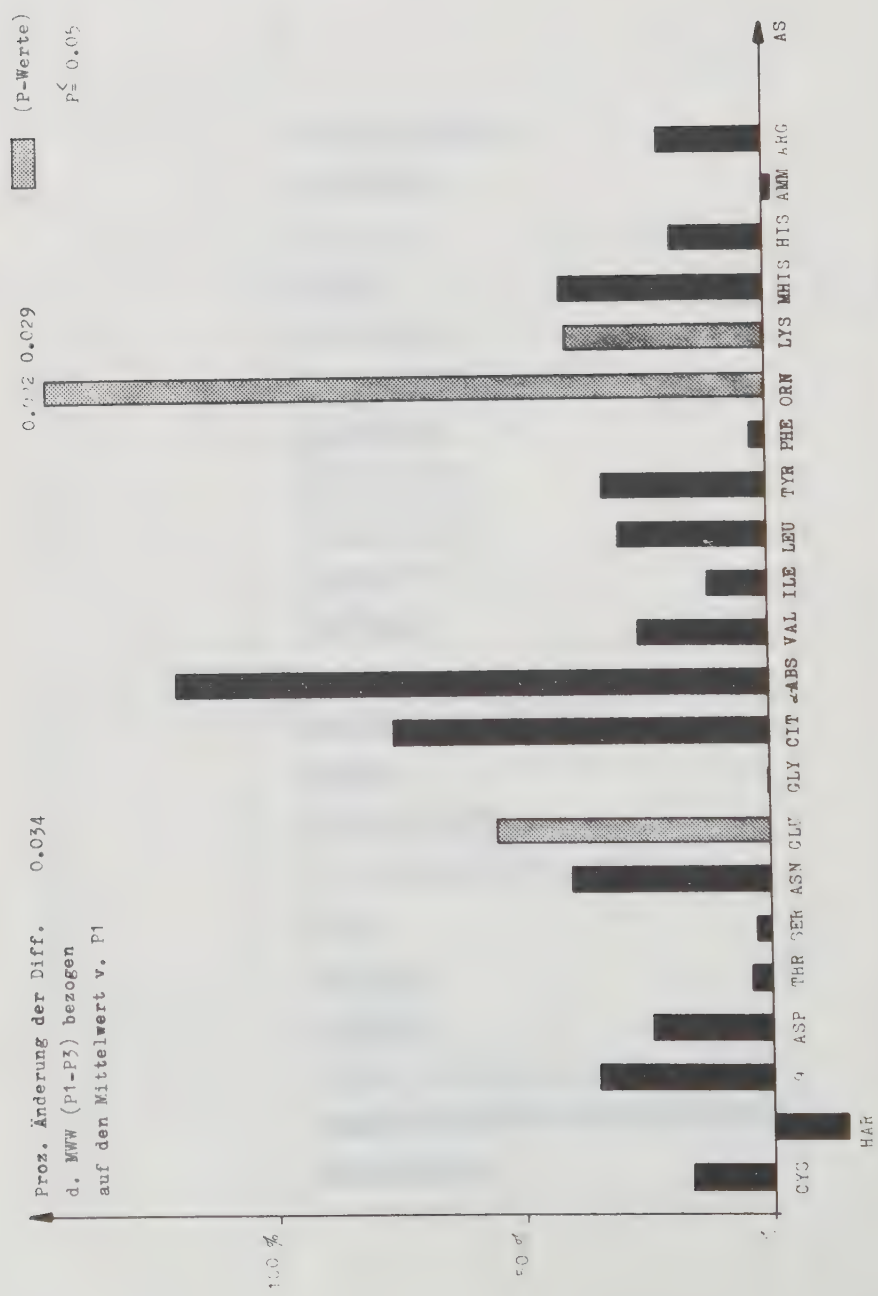


Abb. 1: Veränderungen der AS- Werte (VP+VK) nach 4 Wochen Kurafunktion;
unterschiedlichste Änderungen: schwarz ausgefüllte Stäben

d. MW (P2-P3) bezogen
auf den Mittelwert v. P2

$P = 0.05$



100 %

50 %

0 %

0.031

0.038

0.036

0.008 0.007 0.032

(P-Werte)

CYS

9

ASP THR

SER ASN GLU

GLY CIT

α-ABS VAL ILE

LEU TYR PHE ORN

LYS MHIS HIS AMM ARG

AS

HAR

Abb. 8: Veränderungen der AS-Werte (VP+KP) nach einer 3-wöchigen Therapie;
(nichtsignifikante Änderungen: schwarz ausgefüllte Säulen)

Froz. Änderung der Diff.
d. Mw (P2-P3) bezogen
auf den Mittelwert v. P2
0.019

P < 0.05

(P-Werte)

0.011 0.022 0.013

0.048

100 %

90

80

70

60

50

40

30

20

10

CYS

AS

ARG

AMM

MHS

LYS

ORN

PHE

TYR

ILE

LEU

VAL

ABS

CIT

GLY

ASN

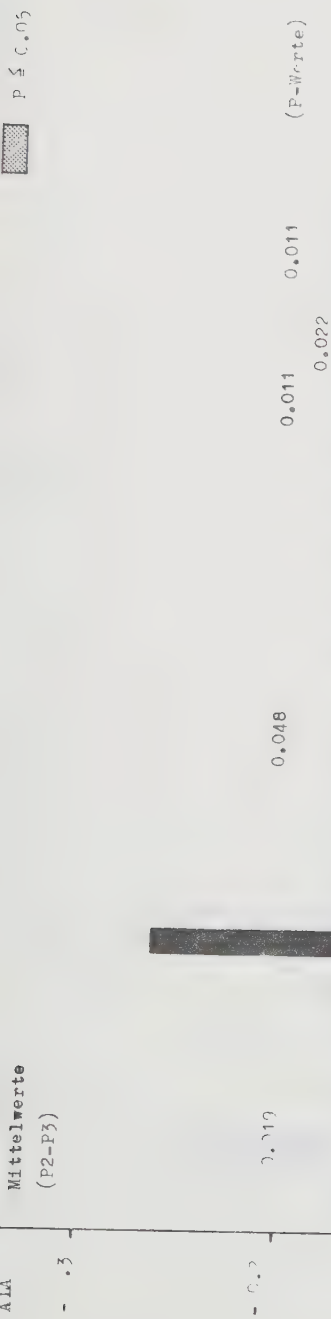
THR

SER

ASP

A. d. 3a: Veränderungen der AS-Werte nach einer 5-wöchigen Hydrotherapie (VP):

(AS = Asparaginsäure, VP = Verapamil, skalen)



9 ASP THR SER ASN GLU GLY CIT α-ABS VAL ILE LEU TYR PHE ORN LYS MHS HIS AMM ARG

Aub. 9b: Veränderungen der AS- Werte nach einer 3- wöchigen Hydrotherapie (VP);
(nichtsignifikante Änderungen: schwarz ausgefüllte Säulen)

Proz. Änderung der Diff.

d. MW (P2-P3) bezogen

auf den Mittelwert v. P2

$P \leq 0.1$

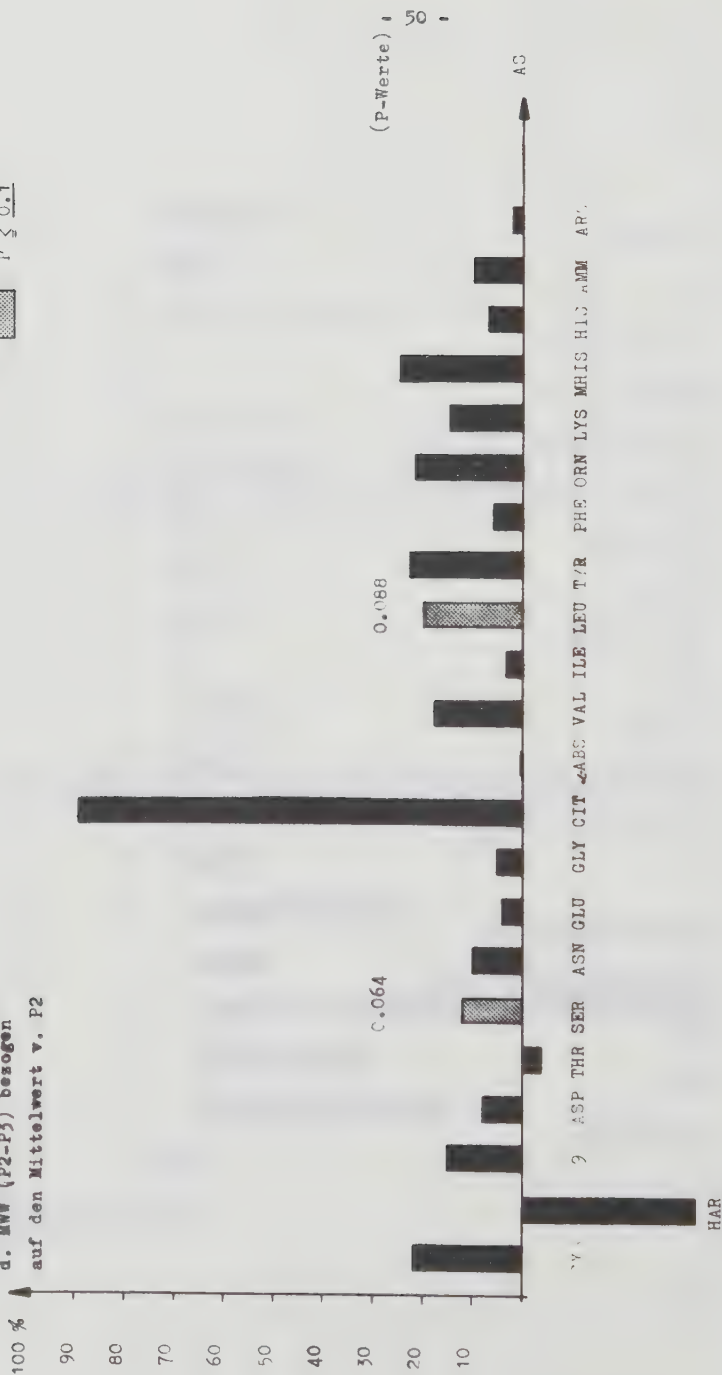
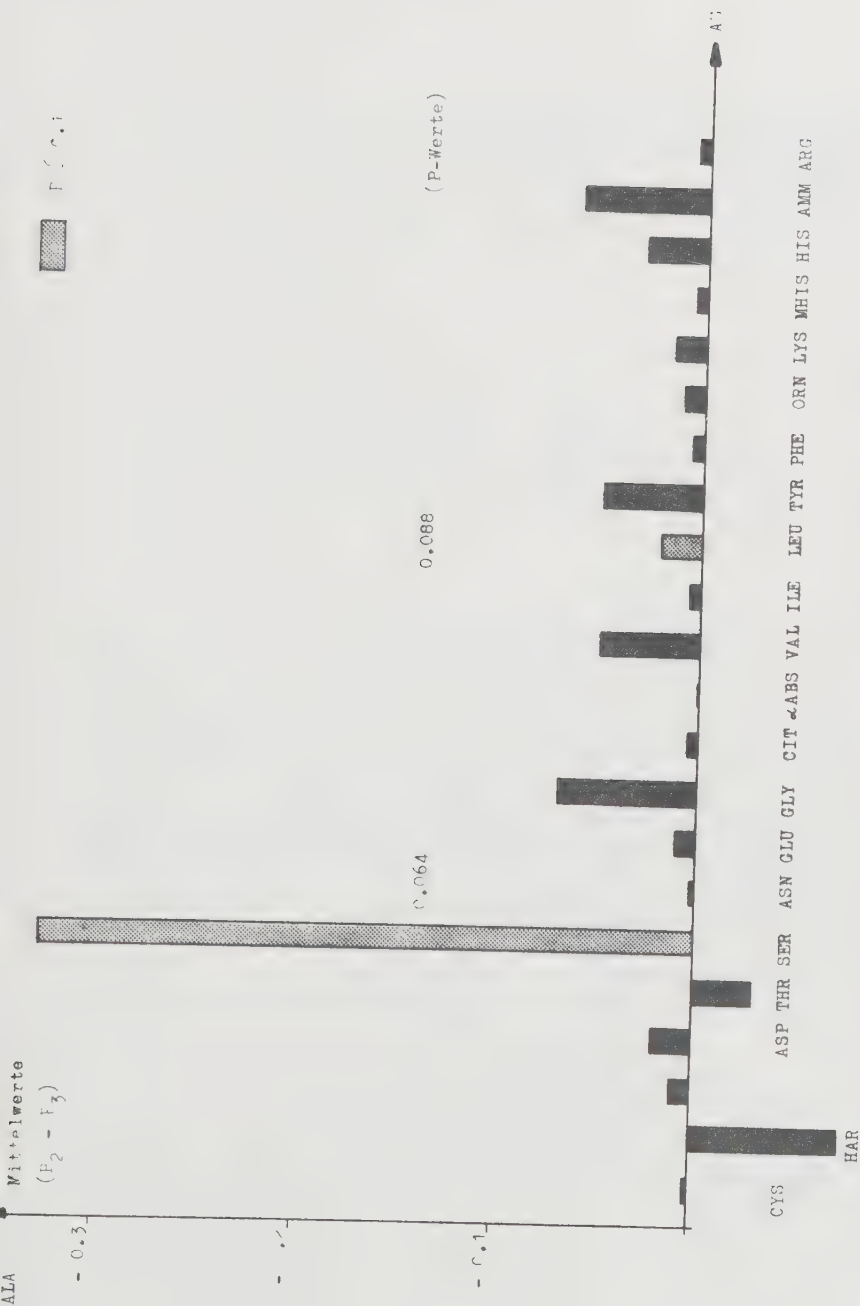


Abb. 10a: Veränderungen der AS-WERTE nach einer 3- wöchigen Bewegungstherapie (KP);

nichtsignifikante Änderungen: schwarz ausgefüllte Säulen



Bei Annahme eines P-Wertes von 0,1 - was einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 10 % entspricht - ist eine Zunahme der AS SER und LEU zu verzeichnen.

SER + 12 %
LEU + 20 %

(siehe Tab. 10a)

4. Korrelationsmatrix

Mit Hilfe des Computers wurde eine Korrelationsmatrix erstellt, in welche alle vorhandenen Informationen eingehen sollten, und die sich deshalb aus folgenden 122 Variablen zusammensetzte:

24 Variable AS Probe 1
24 AS Probe 2
24 AS Probe 3
38 Antworten aus Fragebogen
12 Art der therapeutischen Anwendungen

(Aus technischen Gründen mußte die Matrix in drei Teile zerlegt werden)

Bei ihrer Auswertung konnte festgestellt werden:

1) Alle AS wiesen mindestens einmal zu den Variablen des Fragebogens oder zu einer Therapie einen Korrelationskoeffizienten $>0,7$ auf.

1) Die Variablen: Geschlecht

Turgor (am Arm gemessen)

Salz

Süß

Fleisch

} Ernährung

Atemgymnastik

Bewegungsübungen

hatten zu den AS nur Korrelationskoeffizienten $<0,5$. Sie wurden deshalb bei den weiteren Auswertungen nicht mehr berücksichtigt.

- 3) Im Fragebogen waren Angaben enthalten, die von allen Personen gleich beantwortet worden waren. Für diese Variablen konnten keine Korrelationskoeffizienten berechnet werden, und so mußten auch sie eliminiert werden. Es handelt sich um:

Variable	Antwort
Lebersternchen	keine
Allergien	keine
Hautpigmentierungen	keine
Schwangerschaft z.Z.	nein
Hautfarbe	normal

5. Faktorenanalyse

a) allgemein

Nach ÜBERLA (54) ist "das Hauptziel der Faktorenanalyse (FA) die Ableitung hypothetischer Größen oder Faktoren aus einer Menge beobachteter Variablen. Die Faktoren sollten möglichst einfach sein und die Beobachtung genau beschreiben und erklären." Demnach dient die FA dazu, ein großes Informationsmaterial zu ordnen und Zusammenhänge aufzuzeigen.

Am Anfang jeder FA steht eine Korrelationsmatrix. In ihr werden die Beziehungen zwischen zwei Variablen durch den Korrelationskoeffizienten ausgedrückt. Aus der Analyse dieser Matrix werden dann nach der Hauptachsenmethode die Faktoren bestimmt.

Da in die FA nur quantitative Angaben eingehen können, mußte auf die qualitativen Angaben wie: Augenfarbe

Haarfarbe
Dermographismus
Konstitution
Allgemeinzustand

verzichtet werden.

b) Verlauf

Entsprechend den drei angestrebten FA wurden mit dem reduzierten Datensatz (s.o.) drei Korrelationsmatrizen erstellt. (Alle AS-Werte verstehen sich als Relativwerte zu ALA)

Korr.M. I	22 Variable:	22 AS (Mittelwerte von Proben 1,2,3)
Korr.M. II	45 Variable:	23 AS Probe 1 22 Fragebogenangaben
Korr.M. III	32 Variable:	22 AS (Differenz Probe 2-3) 10 therapeutische Anwendungen

Die Matrizen wurden nach dem Varimax-Verfahren rotiert und mit Hilfe des Scree-Tests die Zahl der Faktoren ausgewählt. Auch wurden die Eigenwerte und die Varianzanteile (VA) der einzelnen Faktoren berechnet. (VA = relativer Anteil des betreffenden Faktors an der Gesamtvarianz aller Faktoren.)

c) Ergebnisse der Faktorenanalyse

FA I 22 Variable: 22 AS (Mittelwerte aller Personen und Maß-
termine)

Faktor 1	Varianz-Anteil (VA)	Eigenwert (EW)
	45,62 %	7,88
GLY	= - 0.8805	
SER	= - 0.8776	
ILE	= - 0.8408	
ASP	= - 0.8368	
THR	= - 0.8252	
VAL	= - 0.7928	
PHE	= - 0.7716	
LEU	= - 0.7363	

HIS = - 0.7245
 HIS = - 0.7160
 LYS = - 0.6486

Faktor 2 VA 13,26 % EW 2,30

CIT = - 0.8675
 MHIS = - 0.8674
 ARG = 0.5799
 AMM = 0.4150

Faktor 3 VA 16,79 % EW 2,90

GLU = 0.7331
 α ABS = 0.7178
 ORN = 0.7023
 ASN = 0.6110

Faktor 4 VA 7,54 % EW 1,30

9 = - 0.6463
 HAR = - 0.6163

Faktor 5 VA 4,44 % EW 0,77

TYR = 0.4163
 LYS = 0.3308

Faktor 6 VA 12,35 % EW 2,13

CYS = 0.7058
 AMM = 0.6228
 ARG = 0.4403
 LYS = 0.4281

FA II 45 Variable: 23 AS Probe 1
22 Fragebogenangaben

Faktor 1 VA 40,20 % EW 14,86

THR = - 0.9712
PHE = - 0.9735
ILE = - 0.9729
TYR = - 0.9430
LYS = - 0.9322
LEU = - 0.9321
SER = - 0.9287
ASP = - 0.9091
VAL = - 0.9009
GLY = - 0.9006
HIS = - 0.8752
NOR = - 0.8629
CIT = - 0.8048
MHIS = - 0.7640
ASN = - 0.7383

Faktor 2 VA 10,23 % EW 3,78

- 0.7541 = Periode
- 0.7326 = Menopause
0.7056 = Größe
0.6167 = Trinkmenge

Faktor 3 VA 6,62 % EW 2,45

0.6650 = Badedauer
- 0.6511 = Schwitzen
- 0.5185 = Körperbehaarung

Faktor 4	VA 6,66 %	EW 2,46	
	- 0.8060	=	Ernährungszustand
	- 0.6990	=	Jahre nach Menopause
	0.6708	=	Gewicht
Faktor 5	VA 5,50 %	EW 2,03	
	0.7440	=	Tage nach letztem Bad
	0.5798	=	α ABS
	- 0.5090	=	Rauchen
	0.4776	=	Alkohol
Faktor 6	VA 8,00 %	EW 2,96	
	- 0.7133	=	Alter
	0.6425	=	ARG
	0.6174	=	Sport
	0.5498	=	AMM
Faktor 7	VA 7,29 %	EW 2,70	
	0.7917	=	Geburten
	0.7024	=	Abgänge
Faktor 8	VA 10,88 %	EW 4,02	
	0.7740	=	9
	0.6906	=	Turgor (Rücken)
	0.6717	=	HAR
	0.6673	=	GLU

0.5454 = ORN
0.5246 = MHIS
0.4851 = Trinken
0.4511 = ASN

Faktor 9 VA 4,59 % EW 1,70

- 0.6111 = Zahl der Bäder pro Monat
- 0.4695 = CYS
0.4428 = Fettgehalt der Haut

FA III 32 Variable: 22 AS (Differenz Probe 2-3)
 10 therapeutische Anwendungen

Faktor 1 VA 21,86 % EW 5,62

0.9333 = GLY
- 0.8616 = GLU
0.7959 = ARG
0.7891 = SER

Faktor 2 VA 13,09 % EW 3,37

0.8557 = Vollbad
0.7409 = Trockenbürsten
- 0.6684 = Schwimmen
0.6292 = Rückenguß

Faktor 3 VA 24,92 % EW 6,41

0.8735 = ILE
0.8108 = ASN

0.7909 = 9
0.7823 = CIT
0.7815 = LFU
0.7696 = THR
0.7430 = HIS

Faktor 4 VA 13,29 % EW 3,42

0.8958 = Sauna
- 0.8282 = Duschen
- 0.6356 = Schwimmen
0.5777 = Ganzwaschung

Faktor 5 VA 9,80 % EW 2,52

- 0.9322 = HAR
0.6043 = CYS
0.5596 = AMM

Faktor 6 VA 6,33 % EW 1,63

- 0.7191 = Gymnastik

Faktor 7 VA 5,90 % EW 1,52

- 0.7374 = Teilmassage

Faktor 8 VA 4,82 % EW 1,24

0.6693 = Bewegungsübungen

Beschreibung der einzelnen Faktoren:

FA I: Sie zeigt Zusammenhänge zwischen den einzelnen AS auf.

Der 1. Faktor besteht mit Ausnahme von HIS und LYS aus sauren, bzw. neutralen AS. Alle AS tragen das gleiche (negative) Vorzeichen, was bedeutet, daß sie sich nie gegensinnig verhalten, sondern gemeinsam ab- bzw. zunehmen.

Im 2. Faktor sind die Metaboliten des Harstoffzyklus enthalten. Dieser Faktor wurde bereits mehrmals bei verschiedenen Kollektiven entdeckt (Pratzel (27), Müller (21), Meyster (59)). Es fehlt allerdings der Harnstoff.

Der 3. Faktor faßt die AS GLU, ~~ABS~~ ORN, ASN zusammen, welche alle das gleiche Vorzeichen tragen. Ihre Gemeinsamkeit besteht - mit Ausnahme von GLU - darin, daß sie in relativ niedrigen Konzentrationen in der Haut vorkommen.

Faktor 4 enthält HAR und die unbekannte Substanz, die wir als Nr.9 bezeichneten. Wegen formaler methodischer Gegebenheiten - Aufeinanderfolge beider Substanzen im Chromatogramm - könnte HAR anstatt in Faktor 2 hier erscheinen.

Faktor 5 faßt die AS TYR und LYS zusammen, die bereits in F 1 vertreten sind, doch durch ihr Auftreten als eigener Faktor wird deutlich, daß die Zusammenhänge zwischen den beiden AS noch größer sind als mit den AS des Faktors 1.

Im Faktor 6 dominieren, mit Ausnahme von CYS, wieder basische AS. Es handelt sich wieder, wie schon in F 2, um ARG und AMM; dazu kommt aber noch die AS LYS, die ja auch schon in F 1 und in F 5 vertreten ist.

FA II: Sie zeigt Zusammenhänge zwischen AS und Angaben des Fragebogens auf.

Im Faktor 1 sind saure und basische AS gemeinsam vertreten. Es handelt sich, mit Ausnahme von NOR und ASN um die gleichen AS wie in FA I, nur sind sie wegen der größeren Zahl der Variablen in einem Faktor zusammengefaßt, was sicher methodische also formale Gründe hat.

Im Faktor 2 ist ein Widerspruch zu verzeichnen, denn bei Frauen, die angeben noch nicht in der Menopause zu sein, wäre eine regelmäßige Menses zu erwarten. Der Fehler dürfte wohl darauf zurückzuführen sein, daß die männlichen VP die Frage nach Menopause und Menses jeweils mit nein beantworteten. Einen Zusammenhang zwischen Körpergröße und Menopause darf man als Zufall betrachten. Auch scheint eine Beziehung zwischen Menopause/Periode und Trinkmenge zu bestehen, doch wegen der bereits o.g. nicht eindeutigen Aussage ist nicht feststellbar, ob die Trinkmenge vor oder nach der Menopause höher ist.

Faktor 3 zeigt einen interessanten Zusammenhang zwischen Badedauer, Schwitzen und Körperbehaarung auf. Personen mit einer schwachen Körperbehaarung schwitzen wenig und Personen mit starker Körperbehaarung schwitzen viel. Zum anderen könnte gesagt werden, daß Personen, die lange baden wenig schwitzen, wobei man aber auch umgekehrt sagen könnte, daß Personen, die nur kurz baden viel schwitzen.

Faktor 4 zeigt Zusammenhänge zwischen Ernährungszustand, Gewicht und den Jahren nach der Menopause auf. Es kann die logische Aussage gemacht werden, daß ein adipöser Ernährungszustand auch ein hohes Körpergewicht mit sich bringt. Auch kann gesagt werden, daß Frauen in der Menopause ein hohes Körpergewicht haben, wobei aber festzustellen ist, daß das Körpergewicht bei Frauen, die sich schon länger in der Menopause befinden niedriger ist als bei Frauen, bei denen die Menopause erst kurze Zeit zurückliegt.

Im Faktor 5 werden Gemeinsamkeiten zwischen α ARS, Rauchen, Alkoholkonsum und der Zahl der Tage seit dem letzten Reinigungsbad erkennbar. Der α ARS-Wert ist um so höher, je mehr Tage das letzte Bad zurückliegt. Auch ist der α ARS-Wert hoch, wenn wenig geraucht, aber viel Alkohol getrunken wird. Die Zahl der Tage seit dem letzten Reinigungsbad war bei Personen mit hohem Alkoholkonsum hoch, bei starken Rauchern hingegen lag das letzte Bad nur kurze Zeit zurück. Ob man daraus den Schluß ziehen kann, daß Raucher ein stärkeres Badebedürfnis haben? Ein gegensinniges Verhalten von Tabak- und Alkoholbedarf spricht gegen jede Erfahrung.

Faktor 6 setzt Alter, Sport und die basischen AS ARG und AMM in Beziehung: Je jünger eine Person ist, um so mehr betätigt sie sich sportlich und um so höher sind ihre AMM- und ARG-Werte in der Haut. Es ist darauf hinzuweisen, daß die Altersdifferenz der Personen maximal 10 Jahre betrug und daß es sich um eine Altersgruppe von 45-55 Jährigen handelt. Faktor 7 beschreibt den Zusammenhang, daß bei vielen Geburten die Häufigkeit eines Abortus höher ist, als bei wenig Geburten.

In Faktor 8 werden Gemeinsamkeiten zwischen Turgor, HAR, Nr.9 und GLU aufgezeigt. In einer zweiten Gruppe, die für sich eine Einheit bildet, doch niederere Faktorenladungen aufweist, wird ein Zusammenhang von Trinkmenge mit den AS ORN MHIS und ASN deutlich.

Faktor 9 erlaubt die Aussagen, daß der relative CYS-Gehalt der Haut um so niedriger ist, je weniger gebadet wird und daß bei seltenem Baden der Fettgehalt der Haut zunimmt. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß noch nicht sicher ist, daß es sich um die AS CYS handelt, denn ihr Identitätsnachweis konnte bisher nur über die Retentionszeit im Chromatogramm erfolgen.

FA III: Sie soll Zusammenhänge zwischen den einzelnen therapeutischen Anwendungen und den Veränderungen der AS während der dreiwöchigen Kur aufzeigen.

In keinem Faktor treten AS und Therapie gemeinsam auf: Faktor 1, 3 und 5 fassen nur AS zu Gruppen zusammen, während Faktor 2, 4, 6, 7 und 8 nur aus Therapieformen bestehen.

V. Diskussion

1. Diskussion der Methode

a) Die Abrißtechnik

Durch die Abrißtechnik ist es möglich, von der lebenden Haut auf schnelle, einfache und schonende Art und Weise das Strat. corneum abzutragen. Da nur wenige einfache Hilfsmittel dazu benötigt werden, kann sie jederzeit, an beliebigem Ort und unter verschiedensten Bedingungen ausgeführt werden. Wie die eigenen Erfahrungen zeigen, ist es auch nicht notwendig, die Hautproben gleich nach dem Abriß zu verarbeiten; im Gefrierfach eines Kühlschranks können sie 14 Tage gelagert werden, ohne daß es zum Zerfall der AS kommt. Wichtig scheint jedoch die sofortige Kühlstellung der Proben zu sein (27). Fehler können bei der "stripping" Methode dadurch entstehen, daß die markierte Hautstelle nicht immer exakt eingehalten wird und vom Rand her Bestandteile oberflächlicherer Hornschichtlagen mitgerissen werden. Um diesen Fehler möglichst klein zu halten, wäre es vielleicht gut, kürzere, dafür aber breitere Klebestreifen zu verwenden. Nimmt man an, daß die relative AS-Konzentration konstant ist, kann auch dieser Fehler vernachlässigt werden.

b) Zur Frage: Wann ist bei der Abrißtechnik die Barriere erreicht?

Da in der vorliegenden Arbeit keine quantitativen Untersuchungen, sondern nur Vergleiche von relativen Konzentrationen gemacht wurden, war es nicht notwendig, das Stratum disjunctum exakt bis zur Barriere abzutragen. Trotzdem wurde der Versuch unternommen. Da nach SZAKALL (52) und aufgrund eigener Vorversuche mit Sicherheit angenommen werden darf, daß mit 8 Abrissen die Barriere erreicht ist, wurde diese Zahl als obere Grenze gesetzt. Erschien das Stratum conjunctum jedoch schon

vorher als zusammenhängende kleine Hautinseln, wurde die Abrißserie beendet.

Eine Übersicht über die Ergebnisse gibt Tab.2

Was kann nun daraus entnommen werden?

- Es kann keine allgemeingültige Angabe über die notwendige Anzahl von Tesafilmabrissen zum Erreichen der Barriere gemacht werden, denn
 - es gibt Unterschiede von Person zu Person
 - es gibt sogar Unterschiede bei der gleichen Person zu verschiedenen Zeitpunkten
- Die Mindestabrizahl der Klebestreifen muß 5 betragen, doch ist die Annahme von PFLEGER (24) falsch, daß damit in allen Fällen die Barriere erreicht werde
- Es ist kein Unterschied zwischen den Geschlechtern feststellbar
- Es ist kein deutlicher Zusammenhang mit der Therapie erkennbar
- Die Hornschicht läßt sich nicht in gleichmäßigen Schichten abtragen, was daran zu erkennen ist, daß die Barriere nur auf einem kleinen Teil des Klebestreifens sichtbar wird. Man kann jedoch annehmen, daß bis zur Barriere mit einem Abriß jeweils eine Zellage entfernt wird, doch durch die verstärkte Haftung der Zellen im Conjunctum werden hier zunächst die herausstehenden und zufällig etwas besser angeklebten Stellen abgerissen.
- Die Barriere kann abgetragen werden, ohne daß sie sich als kleine Hautinseln auf dem Tesastreifen darstellt. Es ist dies an dem feinen Glanz der Haut erkennbar, der nur dann auftritt, wenn die Barriere entfernt worden ist.

Zum letztgenannten Punkt müßten noch weitere Untersuchungen vorgenommen werden, denn die Frage bleibt offen, ob in diesen Fällen die Barriere in toto, d.h. ohne in kleine Inseln zu zerfallen, abgezogen wird, oder ob die Inseln so klein sind, daß sie mit bloßem Auge nicht wahrgenommen werden können.

Doch nun zu den unterschiedlichen Abrißzahlen. Wären sie nur von Person zu Person verschieden, müßte eine unterschiedliche Dicke der Haut als einfachste und wahrscheinlichste Erklärung angenommen werden. Doch da sie ja bei gleichen Personen zu verschiedenen Zeitpunkten schwanken, muß vermutet werden, daß noch andere Faktoren mitbeteiligt sind.

Sicher spielt hier die Technik des Untersuchers eine große Rolle. Je gleichmäßiger und stärker der Tesafilm^R auf die Haut gepreßt wird, um so mehr Zellen finden schnellen Kontakt mit ihm und können durch einen Abriß entfernt werden.

Eine andere Ursache dürfte wohl in der Beschaffenheit der Haut selbst liegen. Starker Fettgehalt und Schweißabsonderung, die den Klebstoff abstoßen, wären hier zu nennen. Auch sollte an einen eventuellen Zusammenhang von Hauttemperatur, Wassergehalt der Haut und Turgor mit der Kohärenz der Zellen gedacht werden.

Eine andere Methode, um mit Sicherheit bis zur Barriere zu gelangen, wurde durch eine Anfärbung des Stratum disjunctum mit einer Methylenblaulösung versucht, wobei die Barriere selbst sich nicht anfärben sollte. Wie schon berichtet, scheiterte das Vorhaben daran, daß die Farbe nicht tief genug eindrang und nur die obersten Hornzellenlagen des Stratum disjunctum anfärbte. Um die Ursachen dafür zu finden, müßten noch weitere Untersuchungen folgen. Wahrscheinlich spielen auch hier wasserabstoßende Faktoren wie Fett- und Feuchtigkeitsgehalt der Haut eine Rolle, wobei GERLICH und VETTERMANN (11) nachweisen konnten, daß trockene, fettarme Haut eher hydrophob als hydrophil wirkt. Vielleicht würde auch die Erhöhung der Konzentration der Methylenblaulösung und/oder die Verlängerung der Inkubationszeit einen Erfolg bringen.

2. Die freien AS im Stratum disjunctum: Vorkommen und Bestimmbarkeit

Bei einem Vergleich der Ergebnisse der eigenen Arbeit mit denen von MÜLLER kann festgestellt werden, daß noch zusätzlich zu den schon bekannten AS die AS CYS, ~~ALA~~ABS und MHIS bestimmt werden konnten. Dies war möglich durch Verwendung längerer Säulen und die dadurch bedingte bessere Trennung der AS. Im Vergleich dauerte der Lauf eines Chromatogramms bei MÜLLER 6 Std./Säulenlänge 35 cm, bei unseren Versuchen hingegen 8 Std./Säulenlänge 52 cm. Es muß jedoch gesagt werden, daß die AS CYS noch nicht sicher genug als solche identifiziert ist, der Identitätsnachweis erfolgte bisher nur über die Retentionszeit im Chromatogramm.

Allerdings konnte die AS MET die MÜLLER und SCHWARZ, nicht dagegen VLACHOS, festgestellt hatten, in unseren Chromatogrammen nicht nachgewiesen werden. Es zeigte sich zwar in allen Fällen ein deutlicher Peak nach Erscheinen von VAL, doch deuteten wir ihn als eine durch zu diesem Zeitpunkt vorgenommenen Pufferwechsel hervorgerufene Unregelmäßigkeit in der Basislinie.

Die AS-Werte konnten mit keinen entsprechenden Angaben aus früheren Arbeiten direkt verglichen werden, da meinen Berechnungen Relativwerte zu ALA oder Zahlenwerte mit der Benennung nMol/ml zugrunde liegen, MÜLLER, SCHWARZ und VLACHOS jedoch mit Angaben in MOL % gearbeitet hatten.

Bei Betrachtung der MW auf Abb.5 fallen besonders drei Werte durch ihre Größe auf. Es sind dies die MW von HAR, SER und GLY. Was hat dies zu bedeuten? Es besagt, daß SER, GLY und HAR die mengemäßig am stärksten in der Hornschicht vertretenen Substanzen sind. Für SER und GLY konnten dies auch schon die o.g. Autoren in ihren Arbeiten nachweisen, doch fanden sie fast ähnlich hohe Werte für die basischen AS ORN und HIS, die ich nicht feststellen konnte.

Interessant ist auch, daß bei einem Vergleich der Minima und Maxima bei den drei besprochenen Substanzen die größten Unterschiede von allen AS vorkommen. Doch fällt die Größe der Differenzen bei Substanzen, die in großer Menge vorkommen, nicht so sehr ins Gewicht, wie bei nur in geringer Menge vertretenen, so daß diesen Zahlenwerten keine zu große Bedeutung zugemessen werden sollte. Es scheint mir dennoch erwähnenswert, daß die größten Differenzen bei HAR nachzuweisen sind.

Abgesehen von den AS TAU GLN AIL PRO TRP, die wegen ihres unregelmäßigen Erscheinens und ihrer geringen Konzentrationen nicht ausgewertet wurden, konnten die relativ niedrigsten Konzentrationen bei CIT festgestellt werden.

3. Diskussion der Differenzen der AS-Mittelwerte beim Vergleich der Proben, die zu verschiedenen Zeitpunkten entnommen wurden

a) Überlegungen zum Einfluß der Hydrotherapie nach KNFIPP auf die AS der menschlichen Epidermis

Die deutliche relative Abnahme des Harnstoffs und die relative Zunahme der AS CIT ORN LYS und HIS bei den Versuchspersonen sind mit Sicherheit auf die Hydrotherapie zurückzuführen, denn die Kontrollgruppe, die sich eben nur durch diese bestimmte Art der Anwendungen unterschied (sogar die Bewegungstherapie war bei beiden Gruppen gleich) kann keine dieser Veränderungen aufweisen.

Es stellt sich nun die Frage: In welche Vorgänge in der Haut greift die Hydrotherapie ein, damit o.g. Umbauprozesse im WL der Epidermis hervorgerufen werden können? Es wäre zu einfach und würde sicher nicht dem komplizierten Stoffwechselgeschehen in der Haut Rechnung tragen, würde man versuchen, dieses Phänomen auf einen Vorgang alleine zurückführen zu wollen. Dagegen spricht auch schon das konträre Verhalten der einzelnen Substanzen: Während die relative Konzentration von HAR abnimmt, steigen die Werte der AS an.

Bevor ich im Folgenden nun versuchen werde, einen Überblick über die verschiedenen Möglichkeiten eines Einflusses der Hydrotherapie auf die Vorgänge in der Epidermis zu geben, möchte ich noch kurz einige prinzipielle Gedanken zu den Ergebnissen selbst anschneiden.

Die Meinung, daß häufiges Waschen und Baden zu Schädigungen der Haut führen, ist allgemein weit verbreitet und auch in der Fachliteratur zu finden. So schreibt GÖTZ (13): "Häufiges Baden oder stundenlanges Verweilen im Wasser führt zu einem Entzug der wasserlöslichen Extraktstoffe aus der Hornschicht, was die Widerstandsfähigkeit der Haut gegen äußere Reize reduziert." Vor allem sind hier die AS zu erwähnen, durch deren Abnahme sich der pH der Hautoberfläche verringert und auch die Funktion der Barriere beeinträchtigt wird, es kommt zum Verlust des Wasserbindungsvermögens des Stratum corneums (18), was zu rissiger, rauher Haut mit wenig Widerstand gegen Bakterien führt.

Tatsächlich kommt in in-vivo Elutionstudien von SZAKALL (ref. Spier) bis zu 40 % des WL mit Wasser aus der Haut entfernt werden. Trotz dieses sicher richtigen Befundes konnte von mir bei keinem Patienten eine rissige, infizierte Haut, wie sie GÖTZ (13) bei Wörishofener Kurgästen beobachtet hat, festgestellt werden. Hautschäden dieser Art werden sicher nicht erst durch eine Hydrotherapie gesetzt.

Die Tatsache der Abnahme des Harnstoffs drängt die Frage auf, ob es durch die Hydrotherapie zu einer vermehrten Elimination von Stoffwechselmetaboliten durch die Haut komme. Es klingt auch hier das oft schon diskutierte Problem an, ob die Haut nicht einen Teil der Nierenfunktion übernehmen könne. Nach PRATZEL (28) sind aber die über die Haut eluierbaren Mengen an Harnstoff, Kreatinin u.a. Substanzen so gering, daß man von einer Entlastung der Nieren sicher nicht sprechen kann.

Doch wären noch Untersuchungen in Bezug auf lipoidlösliche Substanzen sinnvoll, da die Niere im Gegensatz zur Haut nur wasserlösliche Substanzen ausscheidet.

Doch nun zu den möglichen Ursachen für die, durch Hydrotherapie hervorgerufenen Veränderungen in der menschlichen Epidermis: Da hier keine Absolutwerte geprüft wurden, also über eine Bilanz eine Aussage nicht gemacht werden kann, sind einfache Ausspülvorgänge, die alle WL-Verbindungen gleichermaßen treffen, rechnerisch eliminiert.

Betrachtet man das Verhalten des HAR und der AS, so ist anzunehmen, daß der Hydrotherapie-Reiz von der Haut mit einer Änderung des "turn-over" beantwortet wurde. Unter dem Begriff des "turn-over" ist eine Veränderung der Durchsatzrate und eine Verschiebung der Stoffwechsel-Gleichgewichtsrates zu verstehen. Da die Durchlaufzeit einer Zelle von der Keimschicht bis zur Oberfläche variabel sein kann, ist auch die Stoffumsatzmenge variabel, da sie von der Verweildauer der Zelle in der Enzymaktiv-Zone abhängig ist. Zum anderen steht die Stoffumsatzmenge auch in direktem Zusammenhang mit der Enzymaktivität selbst. Es kann also angenommen werden, daß die Haut auf den exogenen Reiz des Wassers mit Veränderungen der Durchsatzrate, der Enzymaktivitäten oder des Substratangebotes antwortet.

Es darf auch als sicher angesehen werden, daß der Faktor Schweiß einen großen Einfluß auf die Ergebnisse nahm. Es ist anzunehmen, daß die Schweißproduktion der Patienten durch die Bäder und die sonstigen Anwendungen vermehrt angeregt wurde, wodurch der Haut vermehrt HAR entzogen wurde. Schon SPITTA (ref. Drexel 7) hat 1893 durch Chlorbestimmungen im Badewasser nachgewiesen, daß mit der Ingangsetzung der Schweißsekretion bei einer durch heiße oder in der Temperatur ansteigende Bäder ausgelösten Hyperthermie des Organismus die Inhaltsstoffe des Schweißes in das Bademedium übergehen. BIRNKAMMER konnte diese Ergebnisse in, allerdings lokal begrenzten Studien, bestätigen.

Nach SCHWARZ (38) ist der HAR ein wichtiger Bestandteil des Schweißes, er stellt den Hauptteil des im Schweiß ausgeschiedenen N-Materials dar. Nach ROTHMANN (33) entstammen 1/3 - 1/2 des gesamten Stickstoffs im Schweiß dem HAR. Seine Konzentration ist im Schweiß auch stets höher als im Blutplasma. Als Bestandteile des Schweißes spielen die AS keine große Rolle. Ihre Menge im Schweiß steht in keinem Verhältnis zur Menge in der epidermalen Hornschicht, die etwa das 200-fache enthält (38). Folglich kann durch starkes Schwitzen auch keine starke Veränderung im AS-Muster der Haut auftreten. Bei all diesen Überlegungen darf die Regeneration des WL nicht außer Acht gelassen werden, denn alle meßbaren Ergebnisse stellen die Differenz zwischen Verlust und Nachschub dar. SPIER und SZAKALL (42) schätzen die Nachschubrate so hoch ein, daß sie annehmen, der Gesamtbestand des WL könne durch exogene H₂O-Eluierung nicht ohne weiteres entscheidend dezimiert werden. Tab.5 liefert exakte Zahlenangaben für die Nachschubraten einzelner Substanzen des WL nach Elutionsversuchen. Daraus wird ersichtlich, daß die Nachschubraten für HAR und die AS annähernd gleich sind, obwohl die eluierte Harnstoffmenge das dreifache der AS-Menge beträgt. Die Frage, ob hier u.a. auch ein Grund für die AS-Erhöhung nach Hydrotherapie zu suchen ist, kann auf Grund der eigenen Untersuchungen nicht beantwortet werden, doch ist diese Möglichkeit nicht auszuschließen.

Substanz	vorhandene Menge in d. Hornhaut $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$	Elution in 40 Min. $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$	Kontinuierlicher Nachschub $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2 \text{ Min.}$
HAR }	0,36	0,05 - 0,1	$1,1 \cdot 10^{-3}$
CIT }			
Urocaninsäure	0,66	0,168	$2 \cdot 10^{-3}$
AS	1,31	0,1	$1 \cdot 10^{-3}$

Tab.5: Übersicht über den Bestand verschiedener Substanzen in der Hornhaut, die Ausspülrate während einer Bspülung von 40-Min. Dauer und den Nachschub in der nachfolgenden Bspülungsperiode (7)

Wenn auch die Resorptionsquote nur einen minimalen Anteil an den Umbauvorgängen in der Epidermis hat, so soll sie doch der Vollständigkeit halber erwähnt werden. Es ist seit langem bekannt, daß Wasser die Haut von innen nach außen durchlaufen kann, doch balneologisch interessant ist auch die Erkenntnis, daß dieser Vorgang reversibel ist (7). Nach STÜTTGEN (45) werden 0,1 - 0,5 % der AS, die in wasserlöslicher Form freigesetzt werden, wieder rückresorbiert. Hier sind vor allem die durch Schwitzen an die Hautoberfläche beförderten AS zu nennen. Es scheint erwähnenswert, daß der Schweiß bei starkem Schwitzen eine niedrigere AS-Konzentration aufweist als bei schwachem Schwitzen. Nach SATO (35) stehen sekretorische Aktivität und Rückresorption in einem definierten Verhältnis, wobei die Sekretion die Rückresorption übersteigt.

Herrmann (16) macht die Konzentration der wasserlöslichen Substanzen an der Hautoberfläche vom Dampfdruckgefälle des Wassers abhängig, d.h., je stärker der Dampfdruck nach außen gerichtet ist, um so größer ist die Konzentration von AS an der Hautoberfläche, je größer aber die Kondensation von H_2O an der Oberfläche ist, um so mehr sinkt die Konzentration ab.

Es darf angenommen werden, daß der Einfluß der Wasseranwendungen sich nicht nur auf Gleichgewichtsverschiebungen im Sinne von Abtransport und Nachschub erstreckt, sondern auch in das Stoffwechselgeschehen der Haut eingreift.

Bei näherer Betrachtung der signifikant zunehmenden AS fällt auf, daß sich darunter am Harnstoffzyklus beteiligte AS befinden, nämlich CIT und ORN.

Bevor die Frage diskutiert werden soll, ob es in der Haut zu Änderungen im Bereich des Harnstoffzyklus kommt, zunächst eine kurze Erklärung dieses Stoffwechselvorgangs.

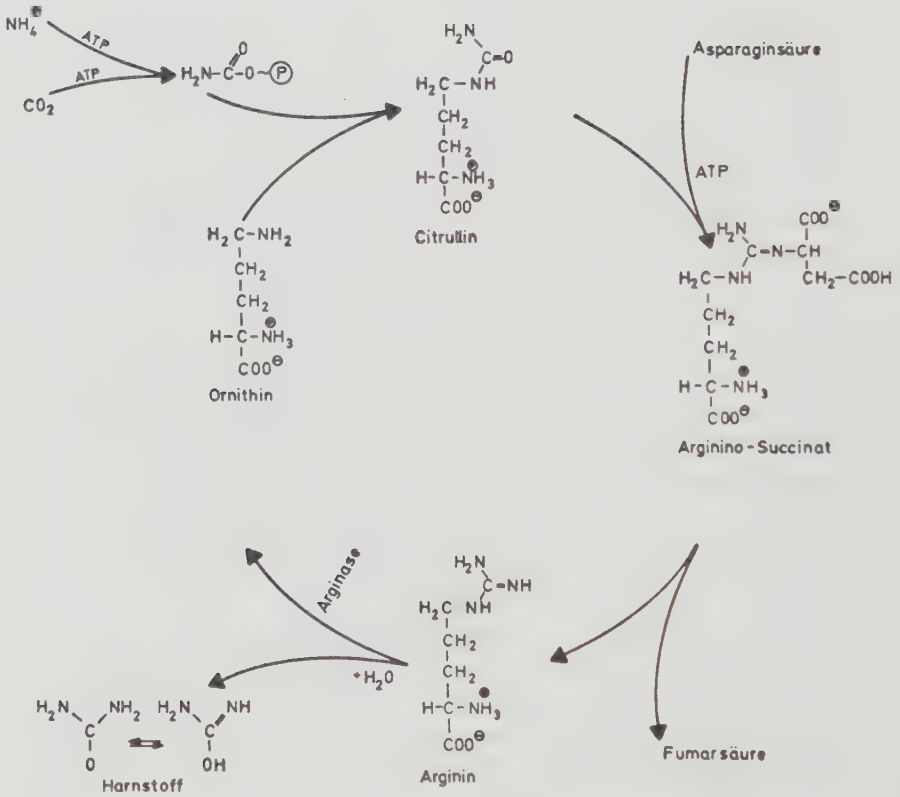


Abb.11: Der Harnstoffzyklus (nach Karlson)

Der Harnstoffzyklus dient der Stickstoffausscheidung in Form von Harnstoff und ist ein energieverbrauchender Vorgang. 3 Mol ATP werden dazu benötigt. Die Bildung des Harnstoffs erfolgt durch Reaktion der AS ORN mit Carbamylphosphat, wodurch CIT entsteht. Dieses wird in zwei Schritten in ARG übergeführt, wobei die dazu nötige NH_2 -Gruppe von der Asparaginsäure geliefert wird, die mit Citrullin zur Argininobbernsteinsäure zusammentritt. Diese wird in Arginin und Fumarsäure zerlegt und das Arginin durch Arginase in Harnstoff und Ornithin gespalten. Damit ist der Kreis geschlossen und Ornithin kann wieder Carbamylphosphat aufnehmen (17).

Es sind, um es kurz zusammenzufassen, 2 NH_3 (aus Glutaminsäure oder Asparaginsäure) mit CO_2 zu Harnstoff zusammengetreten, wobei 3 Mol ATP verbraucht worden sind.

Die Bildung von NH_3 aus Glutaminsäure geschieht durch folgende Reaktion:



Der weitere Abbau des Glutamins, das einen Knotenpunkt im Stoffwechsel der AS darstellt, führt zur Bildung von Ketoglutaratsäure und über eine oxydative Decarboxylierung weiter zur aktivierten Bernsteinsäure (Pyruvat). Somit ist ein Bindeglied zum Citronensäurecyclus, zur Glucogenese, aber auch zur Fett- und Proteinsynthese hergestellt.

Eine sehr anschauliche Darstellung der Beziehungen der Stoffwechselvorgänge zwischen Haut und Gesamtorganismus gibt folgendes, von PRATZEL aufgestelltes Schema (28):

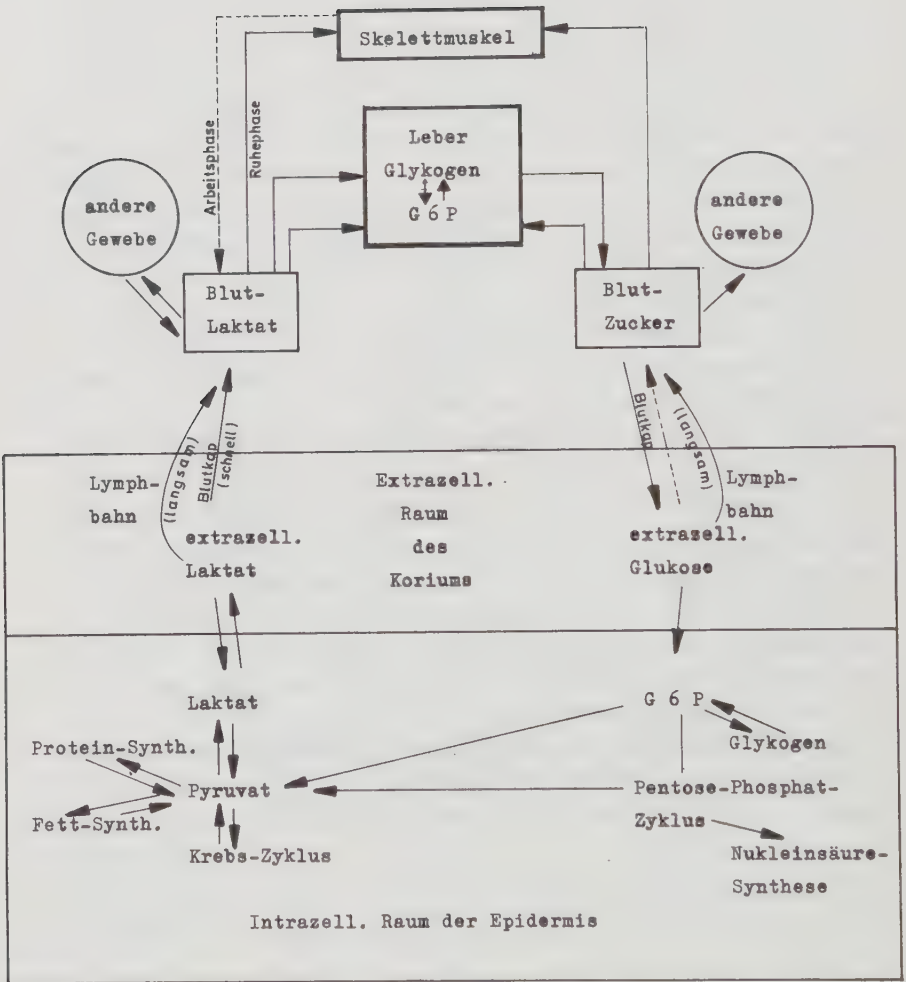


Abb.12: Beziehungen des Kohlehydratstoffwechsels zwischen Haut und Gesamtorganismus

Grundsätzlich muß noch die Frage diskutiert werden, ob in der menschlichen Epidermis tatsächlich ein Stoffwechselprozeß, wie ihn der Harnstoffzyklus darstellt, abläuft. In der Literatur finden sich dazu verschiedene Auffassungen. CROUNSE (6) bestreitet dessen Funktion in der Epidermis, während STÜTTGEN (49) und HERMANN (16) sein Vorkommen als gesichert annehmen. Sie stützen sich vor allem auf die Tatsache, daß einige spezifische Enzyme, vor allem aber die für die Harnstoffbildung wichtige Arginase in der Epidermis nachgewiesen werden konnten. Schon vor 30 Jahren konnten MARCHIONINI und OTTENSTEIN (ref. Steigleder) gelegentlich, aber nicht regelmäßig in Eluaten von der Hautoberfläche Arginase nachweisen. Nach Stüttgen liegt das Ferment vorwiegend in der Epidermis mit einem Maximum im Stratum spinosum. ROTHBERG (31) bestimmte die epidermale Arginaseaktivität mit der manometrischen Methode und stellte fest, daß dieses Enzym weitgehend als Desmoenzym vorliegt, also an hochmolekulare unlösliche Träger gebunden ist.

Auf Grund der eigenen Ergebnisse, d.h. einer Abnahme des HAR und einer Zunahme seiner Vorstufen durch häufige Wasseranwendungen, kann angenommen werden, daß es durch diesen exogenen Einfluß zu einer Abnahme der Arginaseaktivität kommt. Die Frage, wie es zu dieser Hemmung kommt, müßte durch gezielte Untersuchungen geklärt werden. Als Möglichkeiten kämen in Frage: Eine Aktivierung des von STÜTTGEN beschriebenen spezifischen Arginasehemmers oder eine Abnahme von Mg^{+} Ionen durch Auslaugung der Haut. Denn nach STÜTTGEN wird Arginase durch Mg^{+} Ionen aktiviert.

Interessant ist die Tatsache, daß bei Hauttumoren, die vom Str. spinosum ausgehen eine erhöhte Aktivität der Arginase nachgewiesen werden kann (16, 49). Es liegt die Vermutung nahe, daß dieses Ferment bei der Carzinomentstehung von besonderer Bedeutung ist.

Wenn nun durch häufige Wasseranwendungen die Arginaseaktivität gesenkt werden kann, wäre es sicher aufschlußreich, Zusammenhänge zwischen Carzinomentstehung in der Haut und Waschgewohnheiten zu untersuchen.

Die Zunahme von HIS und LYS kann nur dahingehend interpretiert werden, daß - abgesehen von den o.g. Möglichkeiten - bei beiden AS der Abbau verlangsamt vor sich geht. HIS wird normalerweise durch Histidase enzymatisch zu Urocaninsäure abgebaut. Ob es auch zu einer Hemmung dieses Enzyms durch Wasser kommen kann, könnte nur durch Messung der Urocaninsäurewerte nachgewiesen werden. Durch autoradiographische Untersuchungen konnte SCHWARZ (41) einen unterschiedlichen Einbau der AS in der Epidermis feststellen. Die AS lassen sich in zwei Gruppen aufteilen, wobei die erste Gruppe von AS im Stratum basale, die zweite jedoch vorwiegend im Stratum granulosum lokalisiert ist. Es ist interessant zu sehen, daß LYS der ersten, HIS der zweiten Gruppe angehören.

Es scheint mir noch erwähnenswert, daß SCHWARZ (41) in der Altershaut eine signifikante Abnahme von HIS und CIT und anderer AS nachweisen konnte, von AS also, die während der Behandlung mit Hydrotherapie zugenommen haben. Eine Abnahme von CIT ist auch bei pathologischen Verhornungsprozessen wie Psoriasis (61) und Callus (62) feststellbar. Jedoch tritt eine Zunahme von HIS bei klinisch unauffälliger Haut von Neurodermitikern und Ekzematikern (60) auf. Schwarz sieht als Quelle für HIS im WL den Abbau verschiedener Epidermis-Proteine an.

b) Veränderungen der AS nach einwöchigem Milieuwechsel

Es hat sich als nützlich erwiesen, daß zwar sofort nach der Ankunft der Patienten in der Klinik ein Hautabriß gemacht wurde, doch als Ausgangswert für die Therapie Daten verwendet wurden, die aus einem zweiten, nach einer Woche durchgeführten Abriß gewonnen worden waren. Wie sich bei der Auswertung nämlich herausstellte, lagen nach einer Woche ohne Therapie sig-

nifikante Veränderungen von 8 AS vor. Dies darf als ein Beweis dafür angesehen werden, daß - worauf auch schon PRATZEL und MÜLLER (27, 21) hingewiesen haben - exogene Faktoren auf das AS-Muster der Epidermis einen großen Einfluß haben. Worauf im Einzelnen die Zunahme von ASN, Nr.9, GLU ILE LEU TYR ORN HIS zurückzuführen ist, läßt sich aufgrund unserer Untersuchungen nicht feststellen. Wahrscheinlich handelt es sich um ein Zusammenspiel mehrerer Faktoren wie: Klima, Luftdruck, -feuchtigkeit, Essensgewohnheiten, Hygiene und körperliche Tätigkeit, die sich durch den Milieuwechsel der Versuchspersonen verändert und nach den oben bereits erläuterten Mechanismen auf den Stoffwechsel der Haut ausgewirkt haben.

Es ist also für vergleichende AS-Untersuchungen von großer Wichtigkeit, für alle Versuchspersonen möglichst gleiche Versuchs-, vor allem aber auch gleiche Ausgangsbedingungen zu schaffen. Dies bedeutet, daß vor den Versuchen immer ein Zeitraum von mehreren Tagen für die Adaptation der VP an das neue Milieu eingeschaltet werden sollte.

Daß schon eine einwöchige Ortsveränderung mit einer mehr oder weniger großen Umstellung der Lebensgewohnheiten einen Einfluß auf Stoffwechselvorgänge in der Haut nimmt, ist von grosser Bedeutung wenn man bedenkt, daß sicher nicht nur die Haut, sondern auch andere Organe davon betroffen sind und wie häufig in unserer Zeit ein kurzdauernder oder auch längerer Ortswechsel an der Tagesordnung ist.

- c) Die Auswirkungen eines vierwöchigen Kuraufenthaltes auf das AS-Muster der Epidermis unabhängig von einer bestimmten Therapieform

Vergleichende Zahlenwerte über die AS-Veränderungen vom ersten und letzten Tag der Kur bei einer Patientengruppe mit unterschiedlicher Therapie (VP + KP) sind als "Sammelwerte" aufzufassen, in welche die Faktoren Milieuwechsel, Hydro- und Bewegungstherapie gemeinsam eingehen. Sie sind daher ungeeignet,

spezifische Rückschlüsse auf einen Faktor geben zu können und nur für eine allgemeine Aussage über einen vierwöchigen Kur-aufenthalt zu verwenden. Nach einer vierwöchigen Kur ist eine signifikante Zunahme der AS GLU ORN und LYS feststellbar. Was hat dies zu bedeuten?

- a) Der rapide Anstieg von 8 AS in der ersten Woche flacht im Laufe von vier Wochen ab und es kommt trotz verschiedenster Einflüsse seitens der Therapie im AS-Muster der Epidermis wieder zu einer Annäherung an den Normalzustand
- b) Die signifikante Zunahme von ORN und LYS ist auf die Hydrotherapie zurückzuführen, während die Zunahme von GLU durch Milieufaktoren ausgelöst wird.

4. Diskussion der Ergebnisse der Faktorenanalyse und der Korrelationsmatrix

a) Zusammenhänge zwischen einzelnen AS

Mit Hilfe der Korrelationsmatrix ist es uns gelungen aufzuzeigen, daß zu allen AS einzelne Korrelationen $\geq 0,7$ bestehen. Wir haben aber zusätzlich noch das Verfahren der Faktorenanalyse angewendet, um zu sehen, ob sich die AS der menschlichen Epidermis in Gruppen mit bestimmten Charakteristika unterteilen lassen, und ob Querverbindungen zwischen den einzelnen Gruppen bestehen. PRATZEL (27) hat diese Fragestellung bereits früher untersucht und in einem Schema die Zuordnung der einzelnen AS anschaulich dargestellt.

Wenn wir bei unseren Auswertungen für die Faktorenladungen der AS eine untere Grenze von 0,4 (wie es bereits in der Aufstellung der Ergebnisse auf S.54 geschehen ist) setzen, dann ist es möglich, die Faktoren scharf voneinander abzugrenzen und ihnen bestimmte Merkmale zuzuordnen. So finden wir je einen Faktor mit vorwiegend sauren bzw. basischen AS. Deutlich ist auch die isolierte Stellung des HAR, der nur mit Nr.9 als eigener Faktor erscheint. In diesem Zusammenhang wäre es interessant zu wissen, um welche Substanz, die ähnliches Verhalten wie HAR zeigt, es sich hier handelt.

Eine eigene Gruppe bilden auch GLU α ABS ORN und ASN. Mit Ausnahme von GLU handelt es sich um AS, die nur in geringen Konzentrationen in der Epidermis vorkommen. Außerdem besitzen diese drei AS die höchsten Variabilitätskoeffizienten. Die verschiedenen Vorzeichen von CIT und ARG lassen sich mit Hilfe des Harnstoffzyklus erklären: Wird CIT vermehrt abgebaut, nehmen die Werte von ARG zu. Liegt hingegen eine Hemmung des Harnstoffzyklus vor, so kommt es zu einer Anreicherung von CIT und einer Abnahme von ARG.

TYR und LYS lassen sich ebenfalls als eigene Gruppe abgrenzen, auch ARG und AMM treten gemeinsam auf. Diese vier AS sind auch die einzigen, die in mehreren Faktoren gleichzeitig vorkommen und Querverbindungen herstellen.

Wertet man jedoch alle AS - auch die mit Werten $<0,4$ - aus, treten die Charakteristika der einzelnen Gruppen in den Hintergrund. Es ist feststellbar, daß ILE in 5, LYS LEU in 4 und TYR SER HIS PHE AMM in drei von 6 Faktoren vorkommen.

b) Zusammenhänge zwischen AS und Angaben des Fragebogens

1. Die Abhängigkeit der AS vom Alter

Nach BAUER (2) weist die Haut beim älteren Menschen im Vergleich zum Jüngeren einen extrem hohen AS-Gehalt auf, was auf die verminderte Enzymaktivität zurückzuführen sei. Auch MÜLLER (21) gibt eine AS-Zunahme im Alter an. SCHWARZ (41) kann Gleiches bestätigen und gibt signifikante Zunahmen von GLY ALA und VAL, allerdings aber auch Abnahmen von THR GLU HIS CIT und HAR an.

Bei der Auswertung der FA II konnte eine Beziehung von ARG und AMM mit dem Alter festgestellt werden, und zwar nehmen diese AS mit zunehmendem Alter im Vergleich zu ALA ab. Vielleicht läßt sich diese niederere AS-Konzentration bei älteren Leuten darauf zurückführen, daß - wie es auch SCHWARZ in Erwägung zieht - die AS durch die verminderte Talgproduktion der Haut leichter durch Waschen ausgelaugt werden können.

Es wäre auch möglich, daß diese unsere Ergebnisse für eine Auswertung nicht repräsentativ genug sind, da der Altersunterschied bei unseren VP maximal nur 10 Jahre betrug.

2. Badegewohnheiten und die Auswirkungen von Reinigungsbädern

Es ist sozusagen ein Nebenergebnis dieser Arbeit, feststellen zu können, daß bei Personen mit großem Alkoholkonsum das letzte Reinigungsbad (vor Antritt der Reise) länger zurücklag als bei Nichtalkoholikern. Im Gegensatz dazu lag bei starken Rauchern das letzte Bad eine kürzere Zeitspanne zurück als bei Nichtrauchern. Soll daraus geschlossen werden, daß bei großen Alkoholkonsumenten die Hygiene nicht sehr groß geschrieben wird? Vielleicht liegt diesen Ergebnissen auch eine Verfälschung zugrunde, insofern nämlich, daß Personen, die ehrlich genug sind zuzugeben viel zu trinken, auch ehrlich genug sind zu sagen, daß sie so lange schon nicht mehr gebadet haben, während mancher Andere vielleicht doch falsche Angaben gemacht hat.

Es konnte auch ein Zusammenhang zwischen Schwitzen und Badedauer festgestellt werden. Personen, die wenig schwitzen, baden sehr lange, während Personen, die häufig und stark schwitzen, nur sehr kurze Badezeiten angeben. Es wäre sicher falsch, die Badedauer als Ursache für Schwitzen oder Nicht-Schwitzen aufzufassen; die Erklärung ist eher umgekehrt möglich: Daß nämlich Personen, die schnell schwitzen, dies auch während des Badens tun, daß Bad als Anstrengung empfinden und deshalb möglichst früh beenden.

Häufiges Baden scheint auch einen Einfluß auf den Fettgehalt der Haut zu haben. Bei Personen, die selten baden, wurde eine fette Haut festgestellt, während sie nach häufigem Baden eher trocken oder normal war. Als Ursache kommt hier wahrscheinlich vor allem eine Auslaugung der Talgdrüsen - die durch Badezusätze noch gefördert werden kann - in Frage.

Der hohe Wert der AS CYS bei häufigem Baden ist ein ähnliches Ergebnis, wie die bereits diskutierte Zunahme dieser AS durch Hydrotherapie und könnte mit einer Hydrolyse schwefelhaltiger Proteine erklärt werden.

Die α ABS zeigt kurze Zeit nach einem Bad niedrigere Konzentrationen, als wenn das Bad schon längere Zeit zurückliegt. Dieser Unterschied ist sicher auf den unmittelbaren Einfluß der Auslaugung zurückzuführen, wobei der Nachschub auch noch nicht in ausreichendem Maße stattgefunden hat.

3. Bestehen Zusammenhänge zwischen einer speziellen therapeutischen Maßnahme und dem Verhalten einer oder mehrerer AS?

Nach den vorliegenden Ergebnissen aus FA III muß gesagt werden, daß Zusammenhänge zwischen einzelnen therapeutischen Anwendungen (z.B. Vb, Gym) und AS nicht nachweisbar waren. Es konnten zwar Faktoren gebildet werden, doch setzen diese sich alle entweder nur aus AS oder nur aus Therapieformen zusammen.

Bei den Faktoren, die nur aus AS bestehen, ist vor allem der Faktor 5 bemerkenswert, weil er nochmals die besondere, isolierte Stellung des HAR deutlich macht.

Die Faktoren mit Therapieangaben lassen Rückschlüsse auf den Aufbau des Therapieplans zu. So ist z.B. ersichtlich, daß die Gym, BÜ und die TM - die jeweils als einzelne Faktoren auftreten - unabhängig von anderen therapeutischen Maßnahmen verordnet wurden, während z.B. Patienten, die nicht zum Schwimmen eingeteilt waren, mehr Ganzwaschungen und/oder Trockenbürstungen bekamen um den Kreislauf zu aktivieren.

Die Tatsache, daß keine Beziehungen zwischen einzelnen AS und einer speziellen therapeutischen Maßnahme bestehen, läßt den Schluß zu, daß die durch Hydrotherapie hervorgerufenen AS-Veränderungen nicht durch eine im Therapieplan vorkommende Maßnahme allein ausgelöst wurden, sondern daß ihre Zunahme auf alle unter dem Begriff Hydrotherapie zusammengefaßten Faktoren zurückzuführen ist.

Wollte man Aussagen darüber erhalten, ob z.B. Vollbäder oder Schwimmen größere Veränderungen im AS-Muster der Haut hervorrufen, müßten diese Faktoren in eigenen Versuchsreihen untersucht werden.

Andererseits haben die Veränderungen der AS der Haut für den angestrebten therapeutischen Effekt einer Hydrotherapie sicher keine Bedeutung, sondern stellen eher grundsätzlich interessante biologische Effekte dar, die eine Wirkung des Umweltfaktors "Wasser" beschreiben.

VI. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Abhängigkeit der freien AS der menschlichen Epidermis von endogenen und exogenen Faktoren untersucht, wobei der Schwerpunkt der Arbeit auf einer Untersuchung der Veränderungen der relativen AS-Konzentrationen durch eine Hydrotherapie im Sinne eines Umweltfaktors "Wasser" lag.

- 1) Dazu wurden 10 Patienten der Klinik für Innere Krankheiten der LVA in Bad Wörishofen als Versuchspersonen ausgewählt. Sie wurden nach einer Woche Aufenthalt in der Klinik drei Wochen mit Hydro- und Bewegungstherapie behandelt.
- 2) Es wurde nach entsprechenden Kriterien eine Kontrollgruppe aus 11 Patienten gebildet, welche keine Hydrotherapie, sondern nur Bewegungstherapie verordnet bekamen.
- 3) Von allen Versuchs- und Kontrollpersonen wurde ein Fragebogen ausgefüllt, welcher Fragen nach Angaben zur Person, Eigenschaften der Haut, Essens-, Trink-, Rauchgewohnheiten, Körperpflege und sportlicher Betätigung enthielt.
- 4) Zur Gewinnung des Strat. disjunctum der Hornschicht wurden, bei allen VP und KP am Tag nach der Ankunft in der Klinik, nach einer Woche Aufenthalt und am letzten Tag der Kur, mit Tesafilm^R Hornhautabrisse gemacht.
- 5) Mit 0,1 HCl wurde aus den Tesafilmabrisse das Wasserlösliche extrahiert und mit Hilfe des AS-Analysators CHR 2 der Fa. Labotron durch Flüssigkeits-Säulenchromatographie an einem Kationeraustauscher die freien AS bestimmt.
- 6) Die Chromatogramme wurden auf Lochstreifen erfaßt und mit dem, von PRATZEL entwickelten Programm "CHROMA", die relativen Konzentrationen der einzelnen AS berechnet.

7) In den Hauteluaten waren 27 AS und HAR zu finden; davon waren 25 AS identifizierbar und nur zwei Peaks auf den Chromatogrammen konnten keiner Substanz zugeordnet werden.

8) Nach Durchführung des t-Tests und Prüfung von Paardifferenzen konnte festgestellt werden (alle Veränderungen relativ zu ALA):

- a) Nach einwöchigem Kuraufenthalt ohne therapeutische Anwendungen kommt es zu signifikanten Veränderungen ($P \leq 0,05$) der AS: Nr.9 ASN GLU ILE LEU TYR ORN HIS
- b) Nach einem vierwöchigen Kuraufenthalt mit verschiedenen Therapieformen (VP u. KP wurden gemeinsam untersucht), kam es zu einem signifikanten Anstieg ($P = 0,05$) der AS: GLU ORN LYS
- c) Nach dreiwöchiger hydrotherapeutischer Behandlung kam es bei der Versuchsgruppe zu folgenden signifikanten Veränderungen ($P \leq 0,05$): Die AS CIT ORN LYS HIS zeigten eine deutliche Zunahme, während bei Harnstoff eine starke Abnahme zu verzeichnen war.
- d) Nach dreiwöchiger Bewegungstherapie waren bei der Kontrollgruppe bei einem $P \leq 0,05$ keine signifikanten AS-Veränderungen erkennbar. Erst bei Annahme eines $P \leq 0,1$ war ein Anstieg von SER und LEU zu sehen.

9) Um Zusammenhänge zwischen allen gewonnenen Daten aus Chromatographie, Fragebogen und Angaben zur Therapie aufzuzeigen, wurden drei Faktorenanalysen durchgeführt.

- a) In FA I (22 Variable = 22 ASQ) stellten sich folgende Zusammenhänge zwischen den einzelnen AS dar:
Es bildeten sich ein Faktor mit vorwiegend sauren AS, ein Faktor mit Variablen des Harnstoffzyklus, ein Faktor mit GLU ORN ASN α ABS, Nr.9 und HAR erscheinen isoliert als ein Faktor, ebenso TYR und LYS

- b) In FA II (45 Variable = 23 AS u. 22 Fragebogenangaben) konnten Zusammenhänge festgestellt werden zwischen:
- Alter - ARG AMM
 - Turgor - Nr. 9 HAR GLU
 - Zahl der Reinigungsbäder - CYS, Fettgehalt der Haut
 - Zeitpunkt des letzten Reinigungsbades - Alkoholkonsum
 - Rauchgewohnheiten
 - ABS
 - Badedauer - Schwitzen, Körperbehaarung
- c) In FA III (32 Variable - 22 AS-Differenz P2-P3 + 10 therapeutische Anwendungen) konnten keine Zusammenhänge zwischen AS und einzelnen therapeutischen Maßnahmen festgestellt werden. Es bildeten sich Faktoren, die entweder nur aus AS, oder nur aus Therapieformen bestanden.

VII. Literaturverzeichnis

1. Avaki Y., Ando S.: Urea, amino acid and ammonia
in human sweat.
Jap. J. Physiol. 3, 211 (1953)
2. Bauer H.: Tiefenverteilung von AS u. osmot.
wirksamen Substanzen im Strat. cor-
neum gesunder Versuchspersonen.
Diss. München 1970
3. Birnkammer F.: Harstoff und Citrullin in der Horn-
schicht gesunder menschlicher Haut.
Diss. München 1971
4. Bode H.G., Korting G.W.: Haut- und Geschlechtskrank-
heiten Bd.I
Fischer Verlag Stuttgart 1970
5. Christophers E.: Eine neue Methode zur Darstellung
des Strat. corneum.
Arch. klin. exper. Derm. 237, 717 ff (1970)
6. Crounse R.G., Rothberg S.:
J. Invest. Dermatol. 36, 287-292 (1961)
7. Drexel H., Dirnagl K.: Der Stoffaustausch durch die
Haut unter hydroth. und bädetherapeutischen
Maßnahmen.
Arch. f. phys. Therapie 20, 361-375 (1968)
8. Ferreira-Marques J.: Beitrag zur Kenntnis der Biologie d.
Epidermis: Str. oxybioticum u. Str. an-
oxybioticum.
Rev. argent. Derm. 44, 87 (1960)

9. Fey Ch.: Einführung in die Physiologie der Wasseranwendungen.
Der Kneipparzt, München (1953)
10. Fuchs G.: Mathematik für Mediziner u. Biologen
Springer Verlag Heidelberg (1969)
11. Gerlich N., Vettermann, W.: Die Wasserbenetzbarkeit der Hautoberfläche.
Ärztl. Praxis 52, 2746 (1971)
12. Gertler W.: Systemat. Dermatologie Bd. I
Thieme Verlag, Leipzig (1970)
13. Götz, H.: Hautreaktionen durch Baden in Sonne und Wasser.
MMW 109, 553 ff (1967)
14. Gottron H.A., Schönfeld W.: Dermatologie u. Venerologie
Bd.I, 49
Thieme Verlag, Stuttgart (1961)
15. Grüneberg T., Szakall A.: Über d. Gehalt an Schwefel u. wasserlöslichen Bestandteilen in der verhornten Epidermis.
Arch. klin. exp. Derm. 201, 361 (1955)
16. Hermann F.: Biochemie der Haut
Thieme Verlag, Stuttgart (1973)
17. Karlson P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.
Thieme Verlag, Stuttgart (1970)

18. Machiel, Polano: Die Wirkung von Reinigungsmitteln auf die menschliche Haut.
J. Soc. Cosmetic Chemists 19, 3-20 (1968)
19. Mali: The number of Keratin Cells in the human epidermis.
J. invest. Derm. 27, 31-34 (1956)
20. Miescher G.: Über die antibakterielle Wirkung an der Hautoberfläche.
Bull. schweiz. Akad. med. Wiss. (1959)
21. Müller W.: Aminosäurenkonzentration in der Hornschicht und deren Beziehungen zu exog. u. endog. Faktoren.
Diss. München (1974)
22. Müting D., Langhof H.: Über die AS-Zusammensetzung gesunder und kranker menschlicher Haut.
Klin. Wschr. 25/26, 618-619 (1953)
23. Nagy G., Jänner M.: Alterveränderungen in der menschlichen Epidermis.
24. Pfleger H.: Zur Wirkung von Detergentien auf Hornzellen.
Diss. München (1970)
25. Pinkus H.: Examination of the epidermis by the strip method. Biometric data on regeneration of the human epidermis.
J. invest. Dermat. 19, 431 (1952)

26. Pinkus H.: The Direction of Growth of Human Epidermis.
Br. J. Derm. 83, 556 ff (1970)
27. Pratzel H.: Biochemische Vorgänge in der menschlichen
Hautoberfläche.
Diss. TH München (1970)
28. Pratzel H.: Der Stoffwechsel der Haut als Teil des
Gesamtstoffwechsels.
Arch. f. Phys. Therapie 333-348 (1968)
29. Pratzel H.: Parametrische Auswertung unvollständiger
chromatographischer Trennungen mit dem
FORTRAN Programm "CHROMA" nach einer Bi-
Gauß-Approximation.
Z. Anal. Chem. 261, 369-376 (1972)
30. Roberts E., Frankel S.: Arginase Activity and nitrogen
content in epidermat. carcinogenesis in mice.
Cancer res. 9, 231 (1949)
31. Rothberg S.: Possible significance of elevated arginase
activity in psoriasis scales.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 73, 1004 (1958)
32. Rothe R.: Die Perspiratio insensibilis und ihr Gleich-
gewichtspunkt nach Hornhautabrisse, sowie
ihre anschließende Normalisierung.
Diss. München (1968)
33. Rothmann S.: Physiology an biochemistry of skin.
Univers. of Chicago Press (1954)

34. Salfeld K.: Zur Frage d. energieliefernden Stoffwechsels und des AS-Metabolismus der alternden Haut.
Arch. klin. exp. Derm. 234, 213-219 (1969)
35. Sato R., Dobson: Enzymatic basis for the active transport of sodium in the duct and secretory portion of the eccrine sweat gland.
J. invest. Derm. 55, 53 (1970)
36. Schmidli B., Paschoud J.: Die freien Aminosäuren und Polypeptide der normalen menschlichen Haut.
Dermatologica 110, 315 (1955)
37. Schwarz E., Berger M.: Zur Frage CIT-haltiger Epidermis-Proteine.
Arch. Derm. Forsch. 246, 167-174 (1973)
38. Schwarz E.: Stoffabgabe in Schweiß, Talg und Körperausdünstung.
Arch. f. phys. Therapie 5, 349 ff (1968)
39. Schwarz E.: Klinisch chem. Analyse von menschlicher Hautoberfläche.
Z. klin. Chem. u. Biochem. 5, 247 ff (1967)
40. Schwarz E.: Wasserlösliches
Arch. Klin. exp. Derm. 227, 191 (1966)
41. Schwarz E.: Biochemische Stigmata menschlicher Hautoberfläche im Alter.
Z. klin. Chem. u. Biochem. 12, 93-97 (1974)

42. Spier H.W., Szakall A.: Belastungen der Haut, ihre Gesetzmäßigkeiten und ihre Folgen.
Derm. Wschr. 142, 1074 (1960)
43. Spier H.W.: Symposium I, Physiologie der epidermalen Verhornung.
Arch. klin. exp. Derm. 568-571 (1964)
44. Spier H.W., Pascher G.:
Hautarzt 7, 55 (1956)
45. Spier H.W., Marchionini: Orthologie u. Pathologie der Ausscheidung der Haut.
Handbuch der allg. Pathologie 5/II 527 (1959)
46. Spier H.W.: Physiologie der Hautoberfläche.
Act. Probl. Derm. 1, 1-46 (1959)
47. Steigleder G.K.: An der Hautoberfläche nachweisbare Enzyme. Zur Frage ihrer Bedeutung bei der epidermalen Verhornung.
Arch. klin. exp. Derm. 219, 585 (1964)
48. Stüttgen G.: Bestandteile der Hautoberfläche als Differenzprodukt von Bildung und Rückresorption bei der Verhornung.
Arch. f. klin. exp. Derm. 219, 576-585 (1964)
49. Stüttgen G.: Die normale und pathologische Physiologie der Haut.
Gustav Fischer Verlag, Jena (1965)
50. Stüpel H., Szakall A.: Die Wirkung von Waschmitteln auf die Haut.
Hüthig-Verlag, Heidelberg (1957)

51. Szakall A.: Über die Eigenschaften, Herkunft u. physiologische Funktion der die H^+ -Ionenkonzentration bestimmenden Wirkstoffe in der verhornten Epidermis.
Arch. klin. exp. Derm. 201, 331 ff (1955)
52. Szakall A.: Über den Verlust und Nachschub der hygroskopischen wasserlöslichen Inhaltsstoffe in der Hornschicht beim lebenden Menschen.
Arch. klin. exp. Derm. 206, 374 (1957)
53. Tregear R.J., Dirnhuber P.: The mass of keratin removed from the stratum corneum by stripping with adhesive tape.
J. invest. Derm. 38, 375 (1962)
54. Überla I.: Faktorenanalyse
Springer Verlag (1968)
55. Vlachos G.: Zur Verteilung der freien AS in der menschlichen Hornschicht.
Diss. München (1971)
56. Waldeyer A.: Anatomie des Menschen I
de Gruyter Verlag, Berlin (1969)
57. Weinert H.: Untersuchung zur CO_2 Diffusion durch die menschliche Haut.
Diss. München 1970
58. Wundrak H.: Wirkung von Badekuren auf die Haut
Ärztl. Praxis 37 (1971)

59. Mayster H.: Med. Diss. in Vorbereitung
60. Schwarz E.: Arch. Derm. Forsch. 242, 87-96 (1971)
61. Kloss G., Schwarz E.: Arch. klin. exp. Derm. 228,
188 ff (1967)
62. Schwarz E., Thies, Kloss G.: Arch. klin. exp. Derm. 235,
43-52 (1969)

Herrn Diplom-Chemiker Dr. H. Pratzel spreche ich für die Überlassung des Themas und für seine großzügige und freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit meinen aufrichtigen Dank aus. Besonderen Dank schulde ich ihm für die Durchführung der statistischen Auswertung im Rechenzentrum.

Herrn Prof. Dr. H. Drexel danke ich für die Übernahme des Themas.

Danken möchte ich auch Herrn Chefarzt Dr. W. Teichmann und allen Ärzten der Klinik für Innere Krankheiten der LVA in Bad Wörishofen für ihre Beratung in Fragen der Hydrotherapie und ihr Entgegenkommen bei der Durchführung der Versuche.

Außerdem danke ich allen Mitarbeitern des Balneologischen Instituts für ihre stete Hilfsbereitschaft, besonders Frau Wolf für ihre Hilfe im Labor und allen nicht genannten Versuchspersonen.

LEBENS LAUF

Am 26. 2. 1950 wurde ich, Gerda Bader, als Tochter des Drogisten Adolf Bader und seiner Frau Karolina, geb. Schmid, in Türkheim geboren.

Von 1956 bis 1960 besuchte ich die Volksschule in Türkheim, dann bis zum Abitur 1969 das Gymnasium der St.Marien-Schule in Kaufbeuren.

Seit 1969 studiere ich Humanmedizin an der Ludwig-Maximilian-Universität München. Am 28. 9. 1970 legte ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 7. 4. 1972 die Ärztliche Vorprüfung ab. Das Studium wurde beendet mit Ablegung des Staatsexamens am 23. 6. 1975.

